Aus der Universitäts-Kinderklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. J. Ströder

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE SPONTANE HAEMIGLOBIN-BILDUNG UND DIE HAEMIGLOBINREDUKTION IN NABELSCHNUR- UND ERWACHSENENERYTHROCYTEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfasst und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Alfred S C H Ü T Z

aus Aussig-Türmitz

W ü r z b u r g 1 9 5 5

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0113

Aus der Universitäts-Kinderklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. J. Ströder

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE SPONTANE HAEMIGLOBIN-BILDUNG UND DIE HAEMIGLOBINREDUKTION IN NABELSCHNUR- UND ERWACHSENENERYTHROCYTEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfasst und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Alfred S C H Ü T Z

aus Aussig-Türmitz

W ü r z b u r g 1 9 5 5

Tag der mündl. Prüfung:
2 8. Juli 1955

Referent: Priv. Doz. Dr. W. Künzer

Korreferent: Prof. Dr. Dr. W. Neumann

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Inhalt

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	2
1. Die Neigung zur Haemiglobinbildung	2
2. Reduktion des Haemiglobins	4
3. Hemmungsmechanismus der Haemiglobinreduktion	11
a) Wirkung des NaF auf die Glykolyse	12
b) Wirkung der Monojodessigsäure auf die Glykolyse	14
c) Konzentration der Hemmungsmittel	15
d) Zusammenspiel der an der Reduktionshemmung beteiligten Faktoren	16
4. Literaturzusammenfassung	18
III. Methodik	20
IV. Diskussion der Methode	20
V. Versuchsergebnisse	21
VI. Fehlerdiskussion	26
VII. Diskussion der Ergebnisse	28
1. Oxydationsneigung des Nabelschnurblutes	31
2. Reduktionsvermögen in den Nabelschnurerythrocyten	32
3. Reduktionsvermögen in den Erwachsenenerythrocyten	32
4. Unterschiede des Reduktionsvermögens im Erwachsenen- und Nabelschnurblut	33
5. Durchschnittliche Bildungsgeschwindigkeit des Haemiglobins	34
VIII. Zusammenfassung	37
IX. Literaturübersicht	39

I. Einleitung

Im modernen, täglichen Leben und nicht zuletzt durch die heutige Therapie nimmt die Zahl chemischer Noxen, mit denen sich der menschliche Organismus auseinander setzen muss, ständig zu. Dies wirft - wie klinische Beobachtungen zeigen - auch in der Haematologie neue Probleme grosser praktischer Bedeutung auf. Insbesondere sind es hier Substanzen, die in den Stoffwechsel des Blutes verändernd eingreifen und auf Haemoglobin und Erythrocytenstruktur wirken. Dabei zeigt sich, dass die roten Blutzellen von Neugeborenen und jungen Säuglingen bestimmten Stoffen gegenüber (Anilinfarben, nitrithaltiges Trinkwasser, Sulfonamide u.s.w.) ein anderes Verhalten zeigen, als die von Erwachsenen. Im wesentlichen tut sich dies in einer leichteren Oxydierbarkeit des 2-wertigen Eisens im Hb-Molekül zu der inaktiven, 3-wertigen Stufe (Haemiglobin) und in einer grossen Neigung zur Strukturveränderung des Erythrocyten kund.

Sinn der vorliegenden Arbeit war es, unter gewissen Versuchsbedingungen die spontane Haemiglobinbildung im Neugeborenen- bzw. Nabelschnurerythrocyten derjenigen im Blutkörperchen Erwachsener gegenüber zu stellen. Unter Berücksichtigung der dabei wirksamen Fermentsysteme wurden diese das eine Mal belassen, das andere Mal vergleichsweise ausgeschaltet. Dadurch sollte sowohl Einblick in die Affinität des fetalen und des bleibenden Haemoglobins gegenüber Sauerstoff gewonnen, als auch die Aktivität der Fermente, insbesondere des reduzierenden Systems zu verschiedenen Zeiten, abhängig vom absoluten Haemiglobingehalt untersucht werden.

II. Literatur

Die Neigung zur Haemiglobinbildung

Bei der Haemiglobinbildung handelt es sich bekanntlich um eine einstufige Oxydation des Haemoglobins, wobei das 2-wertige Eisen in das 3-wertige übergeht, und der nun fest gebundene Sauerstoff nicht mehr dissoziabel ist. Durch diese Oxydation des Haemanteils zum Haemin kann der Sauerstoff nur noch in der Form einer OH-Gruppe gebunden werden. Das Haemin ist damit zu einem Metallhydroxyd geworden, das seinerseits elektrolytisch dissoziiert und Salze zu bilden vermag. Ausser einfachen Salzen sind auch Komplexverbindungen des Haemiglobins möglich, die sich durch ihre charakteristische Farbe besonders gut zur quantitativen Bestimmung des Blutfarbstoffes verwenden lassen. Eine solche komplexe Verbindung ist die mit Cyanid (54, 76), die auch zur Bestimmung des Haemo- und Haemiglobins in den vorliegenden Untersuchungen benutzt wurde.

Das Haemiglobin bildet wahrscheinlich eine Zwischenstufe bei dem natürlichen Abbau des Blutfarbstoffes, da in alten Zellen der Haemiglobingehalt erhöht gefunden wurde (40). Ferner geht ein primär erhöhter Haemiglobingehalt mit einer leichteren Haemolysierbarkeit der Erythrocyten einher (42). Sekundär mit Oxydationsmitteln haemiglobinhaltig gemachte Blutkörperchen lassen zunächst keine wesentlich gesteigerte Haemolysierbarkeit erkennen (7, 43). Bei Berücksichtigung eines Zeitfaktors kommt es aber bei letzteren schliesslich doch zu einer Steigerung der Haemolysierbarkeit wie KÜNZER (58) zeigen konnte. Man muss darum grundsätzlich annehmen, dass ein erhöhter Haemiglobinspiegel nicht immer mit dem Vorliegen vorwiegend alter Erythrocyten identisch zu sein braucht, sondern auch Ausdruck einer gesteigerten Bildung bzw. ebenso einer verminderten Rückbildung von Haemiglobin sein kann.

Das Eisen hat nun offenbar eine starke Tendenz unter Nebenvalenzverlust in die 3-wertige Stufe überzugehen, was beim Zusammentreffen mit entsprechenden Blutgiften noch eine Steigerung erfährt (8, 15). Auch unter normalen Verhältnissen liegt ein Teil des Blutfarbstoffes beim Erwachsenen in Form des Haemiglobins vor, das aber

meist nicht mehr als 1% des Gesamtblutfarbstoffes ausmacht (31, 54). Nur bei Vergiftungen, wie z.B. mit Nitrit, Anilinfarben u.s.w., und bei erblichen Störungen bestimmter Art (12, 34, 90) ist der Haemiglobinanteil über das physiologische Mass gesteigert, was klinisch als Cyanose in Erscheinung tritt. Bekanntlich ist jedoch für die Atmungsvorgänge im Organismus eine lockere Bindung des Sauerstoffs an den Blutfarbstoff unerlässlich, wie sie durch die komplexe Bindung des molekularen Sauerstoffs an die Nebenvalenz des 2-wertigen Haemoglobineisens gewährleistet wird.

Eine besondere Neigung zur Haemiglobinbildung zeigt das sog. fetale Haemoglobin (2), das nach Untersuchungen von PONDER und LEVINE (70) sowie JONXIS (39) 80% des Blutfarbstoffes im Nabelschnurblut reifer Neugeborener ausmacht. Die restlichen 20% bestehen aus Erwachsenen-Hb. Frühgeburten weisen noch höhere fetale Hb-Anteile auf. Bei diesem Haemoglobin handelt es sich um einen eigenen, wohldefinierten, einheitlich zusammengesetzten Blutfarbstofftyp (57), der sich durch eine ganze Reihe von Eigenschaften vom reifen Hb unterscheidet und normalerweise in den ersten Lebensmonaten schwindet, unter pathologischen Umständen, vor allem Anaemien, aber auch bei Erwachsenen erneut auftreten kann (36, 55, 59, 72, 78, 79).

Neben dieser am Haemoglobin selbst verankerten Oxydationsneigung fördern noch andere Faktoren die Haemiglobinbildung. So kann bei Verdünnung von Blutlösungen das Haemiglobin bedeutend schneller in die inaktive Form übergeführt werden (16). Dies beruht nach HEUBNER (28) wahrscheinlich auf der Tatsache, dass durch die Verdünnung die in den Blutzellen enthaltenen und an der Aufrechterhaltung der funktionsfähigen Form des Blutfarbstoffes beteiligten reduzierenden Faktoren an Wirksamkeit einbüssen. Nach verschiedenen Untersuchungen wird diesem Bestreben des Haemoglobins, den Sauerstoff fest zu binden, durch eine enzymatische Minderwertigkeit Vorschub geleistet. So wies KÜNZER (56) an Hand derartiger Fermentschwächen die bedeutende Funktion der glykolytischen Ferment- und JUNG (40) die der Reduktionssysteme für die Rückwandlung gebildeten Haemiglobins zu Haemoglobin nach. Ausserdem sprechen die von SCHÜTZ (89) durchgeführten Untersuchungen über die Katalaseaktivität von Neugeborenenerythrocyten für die Wichtigkeit oxydationshemmender oder oxyda-

tionsübertragender Faktoren bei der Verhinderung der Haemiglobinentstehung. Schliesslich spielt bei der Haemiglobinbildung die Art der Nahrungszusammensetzung (82, 83), und damit die allgemeine Stoffwechsellage eine wesentliche Rolle, denn bei vorwiegender Eiweissernährung wird durch Verlagerung in das azidotische Gebiet die Voraussetzung für eine Haemiglobinbildung vermehrt (28).

Reduktion des Haemiglobins

Im Rahmen von Untersuchungen über den Blutfarbstoffwechsel machte man die Beobachtung, dass Glucose und Milchsäure in der Lage sind, 3-wertiges Eisen in den roten Blutkörperchen zu reduzieren (92, 94). Diese Rückwandlung von Haemiglobin zu Oxyhaemoglobin war jedoch an die Anwesenheit intakter Blutzellen gebunden. Eine Haemolyse hebt das Rückbildungsvermögen weitgehend auf (23). Nach einer solchen vermag die Glucose und die Fructose das Haemiglobin nicht mehr zu reduzieren, sondern ausschliesslich die Milchsäure, das Glycerinaldehyd und auch der Robison-Ester (Hexosemonophosphorsäure) sind hierzu in der Lage (46). Da alle diese Reaktionen ausblieben, als man an Stelle des Blutes reines Haemiglobin verwandte, kam man zu dem Schluss, dass die Reduktion des Haemiglobins durch Fermente der roten Zellen erfolgt. Die genannten Kohlenhydrate bzw. -Stoffwechsel zwischenprodukte dienen dabei den Enzymen als Substrate. Das Haemiglobin wird hierbei in Oxyhaemoglobin zurückverwandelt und somit für die physiologische Funktion erneut brauchbar. Ein Abbau zu kleineren Molekülen (35) - wie man früher annahm - tritt in diesem Zusammenhang normalerweise nicht ein. Die Erhaltung des Blutfarbstoffes in der zur reversiblen Sauerstoffbindung fähigen Form ist also eng verbunden mit der Glykolyse, die im wesentlichen eine Funktion des menschlichen und tierischen Gewebes darstellt.

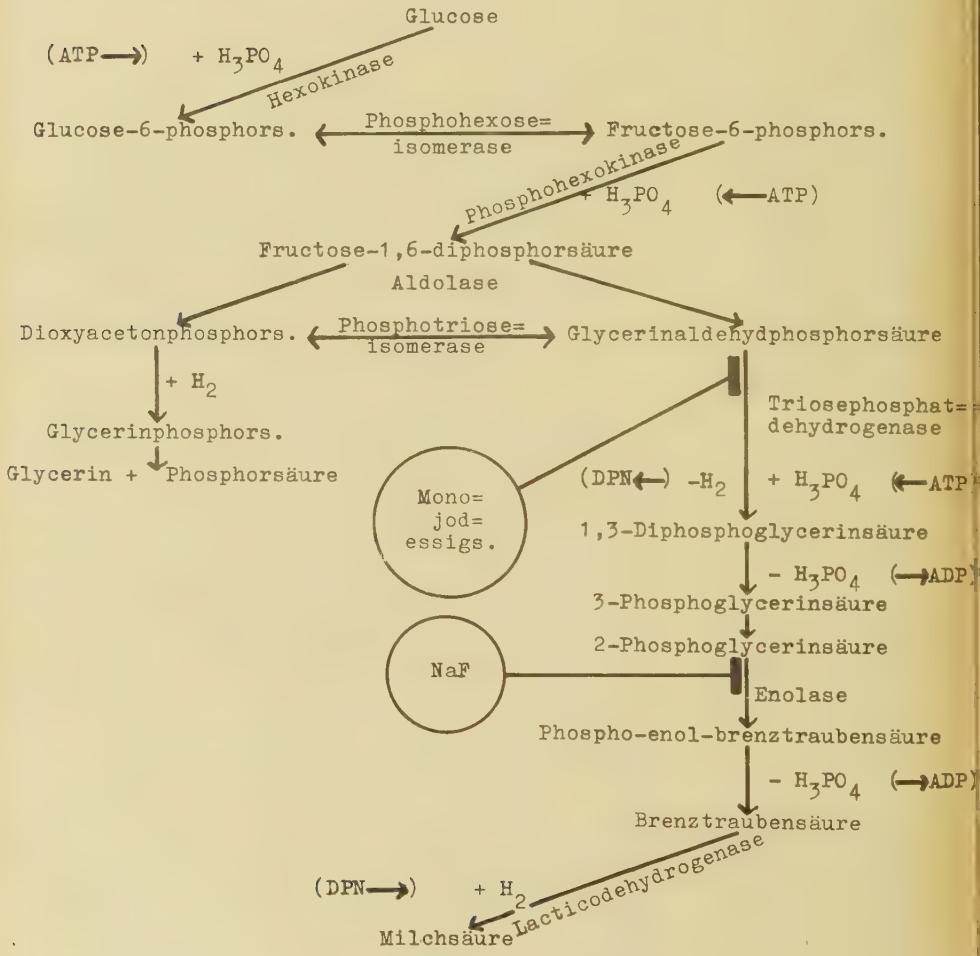
Es besitzen nun im Gegensatz zu anderen Körperzellen die roten Blutkörperchen einen extrem geringen Sauerstoffumsatz, der durch den Mitochondrienverlust bedingt ist (22). Sie gären aber sogar in Gegenwart von Sauerstoff verhältnismässig stark, wobei es zu einer anaeroben Spaltung der Kohlenhydrate kommt, deren Endprodukt normalerweise die Milchsäure ist. Den Erythrocyten fehlen nämlich die Fermentsysteme, die die schnelle Oxydation der verschiedenen

Gärungsprodukte ermöglichen.

Die Erkenntnisse über die Glykolyse haben in den letzten Jahren vornehmlich durch amerikanische Arbeiten eine Berichtigung erfahren. Die heute gültigen Ansichten seien in Anlehnung an LEHNARTZ (61) zum besseren Verständnis der Reduktions- und Hemmungsvorgänge kurz angeführt:
Das Ferment Hexokinase leitet durch Übertragung eines Phosphatrestes aus der Adenosintriphosphorsäure (ATP) die Glykolyse ein, wobei Glucose-6-phosphat und Adenosindiphosphorsäure (ADP) entstehen. Glucose-6-phosphorsäure kann mit Hilfe der Phosphohexoseisomerase in Fructose-6-phosphorsäure übergeführt werden. (Diese Reaktion ist auch in umgekehrter Richtung möglich). Die folgende Phosphorylierung der Fructose-6-phosphorsäure zu Fructose-1,6-diphosphorsäure wird enzymatisch durch die Phosphohexokinase bewerkstelligt, wobei der zweite Phosphorsäurerest von einem zweiten Molekül Adenosintriphosphorsäure geliefert wird, und letztere damit in Adenosindiphosphorsäure übergeht. Anschliessend ermöglicht das Ferment Aldolase die Spaltung des Hexosediphosphats Fructose-1,6-diphosphorsäure zu den beiden Triosephosphorsäuren Dioxyacetonphosphorsäure und Glycerinaldehydphosphorsäure. Das Ferment Phosphotriose-isomerase stellt nun zwischen den beiden Triosephosphorsäuren ein enzymatisches Gleichgewicht her, das aber weit auf der Seite der Dioxyaceton-phosphorsäure liegt. Mittels Reduktion kann diese leicht in Glycerinphosphorsäure übergehen und in Glycerin und Phosphorsäure zerfallen. Theoretisch müsste also bei der Glykolyse vor allem Glycerin entstehen. Dies ist aber durch die Tatsache nicht der Fall, dass der weitere Umsatz der Glycerinaldehyd-phosphorsäure viel schneller verläuft als ihre Umwandlung zu Dioxyaceton-phosphorsäure. Dem Gleichgewicht Dioxyaceton-phosphorsäure und Glycerinaldehyd-phosphorsäure wird also rasch Glycerinaldehydphosphorsäure entzogen, und um das Gleichgewicht aufrecht zu erhalten, muss ständig neue Dioxyaceton-phosphorsäure in Glycerinaldehyd-phosphorsäure umgewandelt werden. Über eine Dehydrierung, die mit einer Phosphataufnahme verbunden ist, wird die Glycerinaldehyd-phosphorsäure zur 1,3-Diphosphoglycerinsäure. Der bei dieser Oxydation freiwerdende Wasserstoff wird hierbei vom Diphosphopyridinnucleotid (DPN) aufgenommen. Durch weitere Fermente kommt es dann zu einer Dephosphorylierung, wobei aus 1,3-Diphosphoglycerin-

säure 3-Phosphoglycerinsäure entsteht, und der Phosphorsäurerest die Adenosindiphosphorsäure in ATP verwandelt.

Fig. I Schema der Glykolyse mit Einzeichnung der Hemmungsmittel-angriffspunkte.



Infolge Fermentwirkung wird die 3-Phosphoglycerinsäure in 2-Phospho-glycerinsäure und dann durch die Enolase in Phospho-enol-brenztrau-

bensäure übergeführt. Ein zweites phosphatübertragendes Ferment überträgt den zweiten Phosphorsäurerest auf Adenosindiphosphorsäure, die damit zur ATP wird, und es bleibt die Brenztraubensäure übrig. Eine abschliessende Hydrierung der Brenztraubensäure liefert endlich die Milchsäure. Das Ferment Lacticodehydrogenase, welches diese Hydrierung bewirkt, besitzt als Co-Ferment das Diphosphopyridinnucleotid (Co-Enzym I), das bei der Oxydation der 3-Glycerinaldehydphosphorsäure das Molekül Wasserstoff aufgenommen hat. Dieser Wasserstoff dient nun zur Hydrierung der Brenztraubensäure zu Milchsäure.

Heute weiss man, dass die Glykolyse bei verschiedenen Blutkörperchenarten nicht gleich stark ist. Es stehen sich zwei Gruppen von Blutkörperchen gegenüber. Eine mit kräftiger Glykolyse (Mensch, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte, Hund, Katze), die andere mit sehr schwacher Glykolyse (Rind, Pferd, Schwein) (96). Durch die Gärung werden aus der Glucose Verbindungen geschaffen, welche mit Hilfe von Fermenten in der Lage sind, das 3-wertige Eisen des Haemiglobins in die 2-wertige Stufe überzuführen. Zu dieser enzymatischen Reduktion des Haemiglobins sind folgende Gärungsprodukte befähigt: Die Milchsäure als Endprodukt der Gärung, die Zwischenstoffwechselprodukte Hexosemono- und Hexosediphosphorsäure und Glycerinaldehydphosphorsäure. Während die Bildung von Hexosephosphaten und Glycerinaldehydphosphorsäure an die Gärung in den Erythrocyten gebunden ist, kann Milchsäure auch aus anderen Quellen im Blut zur Verfügung stehen und in die Erythrocyten eindringen. Damit kommen Glucose und Milchsäure unabhängig voneinander zur Wirkung.

Entsprechend der Zahl der wirksamen Substrate sind mehrere Fermentsysteme nebeneinander zur Reduktion fähig, wobei diese je nach Spezies verschieden stark in Anspruch genommen sind (81). Die beiden Systeme, welche Glucose und Milchsäure als Substrate benötigen, sind bei weitem die wichtigsten. Daneben sind noch andere Fermentgruppen vorhanden, die durch die Verwendung von Fumar- bzw. Apfelsäure gekennzeichnet sind, deren Bedeutung aber der Glucose und Milchsäure gegenüber stark abfällt. Vor allem die Glucose mit ihren unmittelbaren glykolytischen Zwischenprodukten besitzt beim Menschen für die Haemiglobinreduktion die grösste Bedeutung, während das Endprodukt Milchsäure in den Hintergrund tritt (51). Beim Tier liegen die Ver-

hältnisse gerade umgekehrt. Hier besorgt in erster Linie die Milchsäure die Reduktion (51). Da ganz allgemein die Milchsäurebildung durch grosse Haemiglobinmengen sehr stark - gelegentlich bis zur völligen Unterdrückung - vermindert wird (47), muss man schliessen, dass die Voraussetzungen für die Haemiglobinreduktion beim Tier ungünstiger liegen als beim Menschen.

Setzt man gewaschenen, haemiglobinhaltigen Erythrocyten Glucose zu, so entsteht unter Reduktion des Haemiglobins Brenztraubensäure. Nach KIESE (48) kann diese Brenztraubensäure aus Milchsäure nicht gebildet worden sein. Dies ist nur bei der Reduktion des Haemiglobins durch Milchsäure der Fall, wobei eine Milchsäuredehydrase die Milchsäure zur Brenztraubensäure dehydriert und dann in reduzierter Form unmittelbar oder durch Vermittlung eines weiteren Fermentes mit dem Haemiglobin reagiert. Die Brenztraubensäure muss demnach aus einer anderen Reaktion hervorgegangen sein. Der reduzierende Stoff ist nach Meinung von KIESE dabei die Glycerinaldehydphosphorsäure, die über Glycerinsäure Brenztraubensäure liefert. Das Glycerinaldehyd selbst reduziert zwar auch Haemiglobin, aber bei der Glykolyse soll das Phosphoglycerinaldehyd in der Haemiglobinreduktion nur enzymatisch wirken. Daneben steht noch eine eigene Haemiglobinreduktase zur Verfügung, die vermutlich ein gelbes Ferment darstellt, deren Bedeutung aber relativ gering ist. Sie greift über die Hexosemonophosphorsäure am Haemiglobin an. Bei der Reduktion mittels katalysierender Farbstoffe wird sie allerdings zu einem wichtigen Faktor. Bei der Reduktion durch die Haemiglobinreduktase wird der Robison-Ester (Hexosemonophosphat) vom Co-Enzym I dehydriert, und der Wasserstoff für die Haemiglobinreduktion auf die Haemiglobinreduktase übertragen. Als Oxydationsprodukt entsteht dabei nicht Brenztraubensäure, sondern eine andere Säure.

Für den eigentlichen Reduktionsmechanismus wird nach heutiger Ansicht das bei der Glykolyse mitwirkende r e d u z i e r t e C o - E n z y m I (DPN) verantwortlich gemacht, wobei Flavin-Enzyme als Überträger auftreten. In Fällen von idiopathischer Haemiglobinaemie glaubt GIBSON (19), dass im Abbau der Glucose, welcher anders verlaufen soll als in normalen Erythrocyten, das Co-Enzym II (Triphosphopyridinnucleotid = TPN) den Platz des DPN einnimmt. Auf alle Fälle spielen die Pyridin-Enzyme neben den Flavin-Enzymen für die

Reduktion des 3-wertigen Haemiglobineisens die wichtigste Rolle. Bei einer normalen Glykolyse können sie sich durch diese zusätzliche Funktion nicht verbrauchen, da sie durch das in die Glykolyse ebenfalls eingeschaltete ATP stets wieder regeneriert werden (22).

Verschiedene Substrate können sich in der Reduktion unterstützen, andere wiederum behindern sich hierbei. Auch die Reduktionsgeschwindigkeit ist natürlich von mehreren Faktoren wie Temperatur (23), der Art und Menge des Substrates abhängig. Die Prüfung einer Reihe von Substraten ergab, dass der Reduktionsverlauf bei Zuckern linear, bei anderen Metaboliten dagegen logarithmisch verläuft. Unter den verschiedenen Zuckern nimmt die Reduktionsaktivität bei niederer Konzentration in der Reihenfolge Galaktose, Fruktose, Mannose, Glucose und bei hohen Konzentrationen in der Reihenfolge Galaktose, Mannose, Glucose, Fruktose zu (80). Bei hohen Konzentrationen übertrifft demnach die Fruktose die Mannose und sogar die Glucose in der Reduktionsaktivität. Durch Zugabe von Fruktose oder Mannose wird die Reduktionsgeschwindigkeit von Glucoseansätzen nicht beeinflusst. Galaktose beschleunigt den Ablauf der Glucose- oder Mannose-, aber nicht den der Fruktosereduktion. Mannose setzt sogar die Reduktion durch Fruktose auf die von Mannose allein bewirkte Geschwindigkeit herab.

Zu erwähnen ist noch die Wirkung von Lactat, Malat und Fumarat. Wie man bereits in russischen Arbeiten (87), allerdings an Kaninchenerythrocyten, feststellte, wird das Haemiglobin durch Lactat bedeutend schneller beseitigt als durch Glucose. Andere Autoren fanden bei menschlichen Blutkörperchen eine Unterlegenheit des Lactats gegenüber der Glucose (51, 81). Erst bei einer Konzentrationssteigerung des Lactats auf den 10-fachen Wert wurde die Reduktionsgeschwindigkeit der Glucose vom Lactat übertroffen (45). Der Reduktionseffekt des Lactats addiert sich zur Wirkung des Fumarats und Malats. Nach GIBSON (19) ist die Wirkung von Glucose nicht additiv zu der des Lactats. Abgesehen von einer Reduktionssteigerung durch Kombination verschiedener Substrate bzw. Zwischenstoffwechselprodukte kann die Substratwirkung gesteigert werden, wenn man Phosphat zur Suspensionsflüssigkeit der Zellen hinzusetzt, wie dies bei Glucose, Fructose und Mannose der Fall ist, während die Galaktose- wie auch die Lac-

tat- und Malatreduktion unbeeinflusst bleiben (80).

Bestimmte Stoffe, meist Farbstoffe wie Methylenblau, Toluidinblau, Kresylblau, aber auch Askorbinsäure u.s.w. können die Reduktion des Haemiglobins sehr stark beschleunigen (26, 27, 84, 98). Man muss sich darüber klar sein, dass diese Farbstoffe selbst in der Lage sind, Haemoglobin zu Haemiglobin zu oxydieren. Ob eine Oxydation oder Reduktion des Blutfarbstoffes erfolgt, richtet sich nach der Konzentration des Haemiglobins. Die Oxydationsgeschwindigkeit von Haemoglobin an Luft durch Methylenblau und andere reversible Farbstoffe nimmt mit steigender Farbstoffkonzentration zu. Diese Farbstoffe zeigen bei bestimmter Farbstoffmenge eine verschieden grosse Oxydationsgeschwindigkeit, die zu Beginn der Einwirkung auf den Blutfarbstoff gross und bei Annäherung an einen Haemiglobingrenzwert immer kleiner wird, um sich dann mit der Reduktion des Haemiglobins die Waage zu halten. Dieser Haemiglobingrenzwert beträgt beim Methylenblau etwa 12% (28). Das bedeutet, dass das Methylenblau oxydierend wirkt, wenn der Haemiglobingehalt unter 12% liegt, und dass es auf das Haemiglobin reduzierend wirkt, wenn mehr als 12% des Blutfarbstoffes als Haemiglobin vorliegen. Bei diesem Grenzwert von 12% Haemiglobin stellt sich dann zwischen Oxydation und Reduktion ein Gleichgewicht ein. Die katalytische Wirkung auf die Haemiglobinreduktion steigt mit wachsender Farbstoffkonzentration ebenfalls gegen einen Grenzwert an (49). D.h. die Reduktion des inaktiven Blutfarbstoffes wird umso schneller erfolgen, je näher die zugesetzte Farbstoffmenge einer bestimmten Farbstoffmenge - bei der die Reduktionsgeschwindigkeit ihre maximale Grösse erreicht - kommt. Bei den Reduktionen, die durch Farbstoffe beschleunigt werden, wird keine Brenztraubensäure, sondern Kohlensäure gebildet. Die so entstandene CO_2-Menge ist abhängig von der Art des Substrates und dem Zustand des Haemoglobins (Zellen oder Haemolysat), wobei allgemein bei Verwendung von Haemolysaten und Stoffwechselzwischenprodukten sehr viel geringere Mengen CO_2 gebildet werden (50). Die Farbstoffe wirken nur in Gegenwart der Haemiglobinreduktase. Ihre Wirkung ist so zu verstehen, dass sie durch das System Zwischenferment - Co-Enzym - Haemiglobinreduktase unter Auftreten von CO_2 reduziert werden und nun ihrerseits das Haemiglobin zu Haemoglobin umwandeln (48, 50).

Weder die Farbstoffe noch das Haemiglobin vermögen direkt mit dem reduzierten Co-Enzym zu reagieren. Erst auf Zugabe der Haemiglobinreduktase setzt die Reaktion ein. Atebrin und andere Stoffe wie Riboflavin und 5-Aminoacridin sind nun in der Lage, in Gegenwart des Substrates Glucose-6-phosphorsäure bei Kombination mit Farbstoff und Zwischenferment die Wirksamkeit des Reduktasesystems zu erhöhen, unabhängig davon, ob Pyridin-Enzyme vorhanden sind oder nicht (17). Atebrin oder ähnliche Körper sind demnach anscheinend in der Lage, unter bestimmten Voraussetzungen die Funktion der Co-Enzyme einzunehmen.

Neben den reduktiv wirkenden Stoffen dürfte für die Erhaltung des Haemoglobins in der wirksamen Form auch die Hemmung der Haemiglobinbildung durch einen Oxydationsschutz (4,41,100) von Bedeutung sein. Hierbei spielt die K a t a l a s e eine wesentliche Rolle. Durch sie wird neben einer Haemiglobinbildung ein völliger Abbau des Blutfarbstoffes zu Farbkörpern vom Typ des Pentdyopents (3) und weiter bis zum Gallenfarbstoff Biliverdin verhindert (32). Die Methin-Bindung im Haem-Ring ist nämlich gegen Wasserstoffperoxyd sehr empfindlich (22). Auch sind katalasereiche Erythrocyten lang-, katalasearme kurzlebig (71). Nach KIESE (51) soll Haemiglobin unter Reduktion zu Haemoglobin durch Vermittlung der Katalase Gärungsprodukte oxydieren.

Hemmungsmechanismus der Haemiglobinreduktion

Da für die Erhaltung des Blutfarbstoffes in der 2-wertigen Stufe eine ungestörte Glykolyse notwendig ist, muss sich eine Hemmung im normalen Abbau der Kohlenhydrate durch irgendwelche Stoffe in einer Störung der Haemiglobinreduktion offenbaren. Aus dem Kohlenhydratstoffwechsel des Muskels weiss man, dass durch verschiedene Gifte der Abbau der Glucose bei einem Zwischenprodukt stehen bleibt oder in eine abnorme Richtung verläuft, die unter physiologischen Bedingungen überhaupt nicht oder höchst selten beschritten wird. Die am Muskel gewonnenen Erkenntnisse haben aber auch für die roten Blutkörperchen ihre Gültigkeit (22, 97), weil in den roten Blutkörperchen ähnliche Verhältnisse wie im Muskel vorliegen. Als derarti-

ge Stoffwechselhemmer kommen vor allem das N a t r i u m f l u o - r i d und die M o n o j o d e s s i g s ä u r e infrage, deren Wirkungsmechanismus hier näher betrachtet werden soll.

a) Wirkung des NaF auf die Glykolyse

Setzt man zu Blut NaF in geeigneten Konzentrationen hinzu, so vermindert sich infolge von Phosphorylierungsvorgängen bei der Glykolyse die Menge der von vornherein vorhandenen Adenosintriphosphorsäure sehr stark bzw. schwindet völlig. Gleichzeitig häuft sich Hexosediphosphorsäure in erheblichem Masse an, welche bei einer normal verlaufenden Glykolyse nicht gefunden wird und die bei Aufhören der Hemmung wieder verschwindet. Nach einiger Zeit lagert sie sich allmählich in ein Gemisch zweier phosphorylierter 3-Kohlenstoffverbindungen, die Glycerinphosphorsäure und die Phosphoglycerinsäure um. Diese Reaktion wird dadurch erklärt, dass die Hexose-diphosphorsäure in zwei Moleküle Triosephosphorsäure zerfällt, welche dann zu Glycerinphosphorsäure und der Phosphoglycerinsäure umgewandelt werden.

Das Fluorid besitzt neben einer allgemeinen Hemmwirkung auf die Abspaltung von Phosphorsäure aus den phosphorylierten Zwischenprodukten - besonders in Gegenwart von Magnesiumionen und anorganischem Phosphat (66) - vor allem an der E n o l a s e einen weiteren Angriffspunkt, wodurch die Umwandlung von 2-Phosphoglycerinsäure in Phospho-enol-brenztraubensäure verhindert wird (5,93). Diese Funktion des NaF wird einerseits durch die mit den gereinigten Enzymen durchgeführten Versuche und andererseits durch die Analyse der in Gewebsextrakten infolge Hemmung freiwerdenden intermediären Produkte bewiesen. Die Glykolyse kommt damit endgültig auf der Stufe der 2-Phosphoglycerinsäure zu stehen, und somit wird auch die Resynthese der ATP aus ADP unmöglich.

Durch das Fehlen der Phosphobrenztraubensäurebildung, welche die reduzierte Co-Zymase (= DPN = Co-Enzym I) reoxydieren könnte, reichert sich neben Phosphoglycerinsäure reduziertes DPN an, sodass die Dehydrierung von neuer Glycerinaldehyd-phosphorsäure ausbleiben muss. Die Glykolyse der roten Blutkörperchen ist dadurch nicht nur so weit behindert, als das NaF die Enolase hemmt, sondern die Hemmung erfährt infolge der Anhäufung von reduzierter Co-Zymase noch eine Steigerung.

Wenn nun der weitere Ablauf der Glykolyse von der Resynthese der Adenosintriphosphorsäure und der Reoxydation der reduzierten Co-Zymase abhängig ist, lag der Gedanke nahe zu untersuchen, ob durch Zugabe von Brenztraubensäure die Glykolyse nicht wieder in Gang zu bringen ist. Theoretisch müsste dies - wenn auch nur vorübergehend - gelingen, da das reduzierte Co-Enzym I (DPN) der Lacticodehydrogenase den Wasserstoff an die Brenztraubensäure nun offenbar abgeben kann. Dadurch wird diese zur Milchsäure, während das oxydierte Co-Enzym I durch erneute Aufnahme eines H_2-Moleküls die Glycerinaldehyd-phosphorsäure zu 1,3-Diphosphoglycerinsäure dehydrieren könnte. Tatsächlich war es DISCHE (9, 10) möglich, durch Zugabe von Brenztraubensäure zu einem fluoridvergifteten Blutkörperchenansatz dies zu zeigen, wobei die Milchsäurebildung erneut in Gang kam. Die zugesetzte Brenztraubensäure trat an die Stelle derjenigen, die im Stoffwechsel durch die Fluoridvergiftung nicht mehr entstehen konnte. Die Brenztraubensäure bringt infolge Reoxydierung des DPNs die Glykolyse wieder in Fluss, wobei sich durch Dehydrierung der Glycerinaldehydphosphorsäure ATP synthetisiert. Natürlich ist unter diesen Umständen die entstehende ATP-Menge geringer als normalerweise, da ja die Bildung des ATP aus der Dephosphorylierung der Brenztraubensäure wegfällt. Ausserdem hält die Glykolyse nur so lange an, als Brenztraubensäure zu Milchsäure hydriert werden kann. Sie ist also abhängig von der Menge der zugesetzten Brenztraubensäure.

Aus Versuchen mit NaF ist ferner bekannt, dass die Hemmwirkung des NaF bei gleicher Konzentration an verschiedenen Zellen oder Gewebsextrakten eine unterschiedliche Stärke zeigt. Eine Erklärung dafür sucht man zum Teil durch die variable Permeabilität der Zellen für Fluorid zu geben. In roten Blutkörperchen verteilt sich in kürzester Zeit das Fluorid gleichmässig, während es bei anderen Zellen, wie z.B. Hefe, nur bei sauerem Milieu in das Zellinnere eindringt (11, 65). Arbeitet man mit Gewebsextrakten, so können Differenzen im Hemmungsausmass auch durch die Art der vorhandenen Ionen entstehen. Der Hemmeffekt zeigt nämlich neben der Magnesium- und Phosphat- noch eine Natrium- und Kaliumabhängigkeit. Ausserdem wird der Hemmungsgrad dadurch bestimmt, ob man dem Versuchsgemisch zuerst Glucose oder Fluorid zusetzt (68, 74).

b) Wirkung der Monojodessigsäure auf die Glykolyse

Analog dem NaF wird auch durch die Monojodessigsäure die Milchsäurebildung unterbrochen, und es kommt ebenso zu einer Anhäufung von Hexosephosphorsäure und zu deren sekundärer Umwandlung, die aber bereits auf der Stufe der Triosephosphorsäure halt macht. Die Jodessigsäure verhindert den weiteren Abbau der letzteren, da sie eine besonders starke Wirkung auf die T r i o s e p h o s p h a t - D e h y d r o g e n a s e ausübt (1, 63, 64) und deren Funktion unterbindet. Aus diesem Grunde unterbleibt die mit einer Phosphataufnahme verbundene Dehydrierung der Glycerinaldehydphosphorsäure zu 1,3-Diphosphoglycerinsäure. Bei dem mit Jodacetat vergifteten Blutkörperchen kann deshalb mit Hilfe eines Brenztraubensäurezusatzes die Milchsäurebildung nicht wie bei der Fluoridvergiftung erneut in Gang gesetzt werden, da infolge der Jodessigsäurewirkung gar kein reduziertes DPN vorhanden ist, welches über die Hydrierung der Brenztraubensäure zu Milchsäure reoxydiert werden könnte (10). Abgesehen von den verschiedenen Angriffspunkten unterscheidet sich die Wirkung der Monojodessigsäure von der des NaF durch irreversible Schädigung der Fermentsysteme (20). Wird das NaF beim Waschen in physiologischer Kochsalzlösung von den Erythrocyten getrennt, so bildet sich etwa die Hälfte der Adenosintriphosphorsäure zurück, während bei einer Monojodessigsäurevergiftung eine derartige Resynthese ausbleibt.

Die Adenosintriphosphorsäure bzw. die Phosphorylierungsvorgänge spielen bei der Glykolyse eine eminent wichtige Rolle. Zu einer richtigen Beurteilung des Hemmungsausmasses des NaF und der Monojodessigsäure kommt man nur dann, wenn man im glykolytischen System nicht nur die Milchsäurebildung, sondern auch das Schicksal der ATP und der Phosphatfraktionen beachtet. Nach GOURLEY (21) liegt durch diese Hemmstoffe nach 1 Stunde 80% der ATP als ADP vor. Im Gegensatz dazu geht aus der Untersuchung von MANYAI und SZEKELY (66) hervor, dass es sich bei dem so entstandenen Phosphat weder um ADP, noch um anorganisches Phosphat, sondern um eine Mischung verschiedener intermediärer Produkte handelt, in welche der Phosphor eingebaut ist. Beim Aufhören der Hemmung findet derselbe wieder völlig zur Resynthese der ATP Verwendung.

c) Konzentration der Hemmungsmittel

Um einen Hemmeffekt zu erreichen, muss eine Mindestmenge an hemmendem Agenz vorhanden sein. Die Konzentration desselben steht erwartungsgemäss in Relation zum Ausmasse der Wirkung. Bei Überschreiten einer bestimmten Höchstgrenze tritt eine Schädigung der Zellen ein.

Auf Lösungen von $4\text{-}8.10^{-3}$ mol. NaF und 5.10^{-4} mol. Monojodessigsäure verschwindet bei einer Temperatur von 37 Grad innerhalb einer Stunde die ATP vollständig aus dem Blutansatz. Wird die Konzentration des NaF höher als $1\text{-}2.10^{-3}$ mol., so wird die Hemmung der Enolase vollkommener, was zu einer steigenden Anreicherung von Phosphoglycerinsäure führt (66). Bei noch grösseren Fluoriddosen werden nicht nur die Enolase, sondern auch andere Fermente vergiftet (97).

Durch die Monojodessigsäure erfährt der normale Ablauf der Glykolyse schon bei einer Konzentration von 10^{-5} - 10^{-4} mol. eine Behinderung. Erhöhung der Konzentration auf 10^{-3} mol. und mehr hemmt auch die Tätigkeit anderer, SH-Gruppen enthaltender Enzyme, und es tritt eine Strukturschädigung der Leukozyten ein (20).

Die obige Tatsache des ATP-Schwundes bei einer Konzentration von 4.10^{-3} mol. NaF bedeutet nach MANYAI und SZEKELY (66) noch nicht ein völliges Aufhören der Glykolyse. Die Enolase sei bei diesen Hemmmittelmengen nur teilweise ausgeschaltet. Das ist aber ausreichend, um durch Verschiebung des Gleichgewichtes der Triosephosphat-Dehydrierung eine Anhäufung der früheren intermediären Produkte zu erreichen. Die Glykolyse geht dabei sehr langsam vor sich, wobei der begrenzende Faktor in der Reoxydation des reduzierten DPNs besteht. Wenn die Glykolyse aber nicht völlig unterbrochen wird, so muss man gezwungenermassen noch einen weiteren Phosphatumsatz annehmen. Für diese Vermutung sprechen auch die Untersuchungen von GOURLEY (20), welcher die Hemmwirkung dieser Mittel an Hand der Aufnahme von radioaktivem Phosphor in die roten Blutkörperchen untersuchte. Er beobachtete ein Hemmungsmaximum der Phosphoraufnahme (20 - 25%) bei 5.10^{-4} mol. Monojodessigsäure- oder 2.10^{-2} mol. NaF-Lösungen. Das bedeutet, dass weder NaF noch Jodessigsäure die Phosphataufnahme durch

die Erythrocyten vollständig stoppen kann, was gegen eine völlige Unterbrechung der Glykolyse spricht.

Da die Monojodessigsäure in den Ablauf des Kohlenhydratabbaus einige Stoffwechselglieder früher hemmend eingreift als das NaF, ist eine Steigerung des Hemmungserfolges durch Kombination beider Mittel in geeigneter Konzentration leicht verständlich.

d) Zusammenspiel der an der Reduktionshemmung beteiligten Faktoren

Abgesehen davon, ob nun die Glykolyse durch NaF und Monojodessigsäure vollkommen aufgehoben wird oder nicht, taucht die Frage nach dem Hemmungsgrad der Haemiglobinreduktion durch diese Stoffe auf. Bei der Glykolysehemmung entsteht Hexosemonophosphorsäure, die durch Dehydrierung für eine Haemiglobinreduktion in Betracht kommen kann. Wie gesagt, schreibt man die Erhaltung des Haemoglobins in der funktionsfähigen Form vor allem der Wirkung des reduzierten DPNs zu. Durch die Wirkung des Jodacetats verhindert man aber bereits die Reduktion des DPNs, so dass eine Reduktion des Haemiglobins zu Haemoglobin über Glycerinaldehyd-phosphorsäure mittels reduzierten Co-Enzyms von vornherein wegfällt. Eine Bildung von Hexosemonophosphorsäure ist aber noch möglich, die allerdings nur so lange anhält wie ATP für die Phosphorylierung der Glucose vorhanden ist.

Das NaF wirkt in erster Linie auf die Enolase. Somit kann zunächst das für eine Reduktion in Frage kommende reduzierte DPN entstehen. Diese Bildung dauert aber ebenfalls nur so lange wie ATP für die Phosphorylierungsvorgänge zur Verfügung steht. Nach einer längeren oder kürzeren Zeit ist die Adenosintriphosphorsäure verbraucht, wobei sich der Phosphor in Form der 2-Phosphoglycerinsäure aufspeichert. Eine Reduktion des DPNs ist jetzt nicht mehr möglich, da der Dehydrierung von Zwischenprodukten erst eine Phosphoranlagerung vorausgehen muss, die ja nun nicht mehr stattfinden kann. Übereinstimmend mit diesen Überlegungen fand man tatsächlich, dass k l e i n e Konzentrationen von Monojodessigsäure bereits eine 9 0 %ige H e m m u n g der Haemiglobinreduktion hervorrufen (19). Andere Autoren (80) beschrieben eine 70%ige Hemmung der Reduktion in braunen Zellen bei Konzentrationen von 10^{-5} mol. Während Monojodacetatmengen von 10^{-3} mol. die Wirkung der Glucose auf die Reduktion des

3-wertigen Eisens praktisch völlig ausschalten, soll nach KIESE die Reduktion durch nicht auswaschbare, in den Erythrocyten vorhandene Stoffe damit unbeeinflussbar sein (46).

Bei NaF-Vergiftung wurde gefunden, dass eine 1.10^{-2} mol. Lösung die Haemiglobinreduktion in Gegenwart von Glucose unwesentlich hemmt. Phosphoglycerinsäure häuft sich unter diesen NaF-Konzentrationen nur dann in einer bedeutenden Menge an, wenn das Haemiglobin in Haemoglobin übergeführt wird (19). Das reduzierte DPN gibt offenbar den Wasserstoff für die Reduktion des Blutfarbstoffes ab, um für die Oxydation von weiteren Mengen Glycerinaldehyd-phosphorsäure bereit zu stehen. Demnach besitzt die Monojodessigsäure eine stärkere und früher einsetzende hemmende Wirkung auf die Haemiglobinreduktion als das Natriumfluorid.

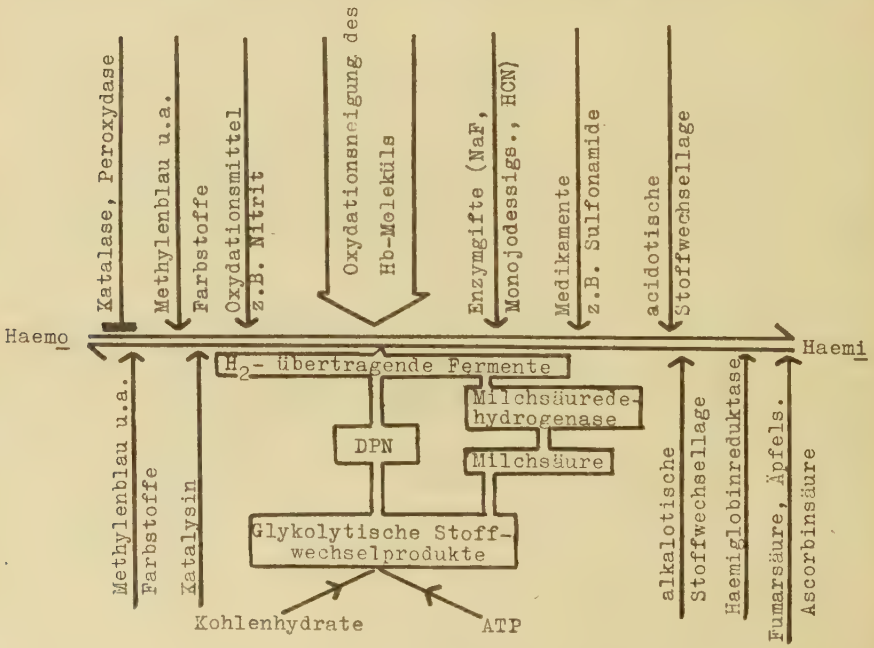
Aus dem oben Gesagten ist leicht verständlich, dass weder Monojodessigsäure noch NaF in den angegebenen Konzentrationen einen Einfluss auf die durch Lactat bedingte Reduktion des Haemiglobins haben können (87), da das Lactat durch seine Oxydation zur Brenztraubensäure auf das Haemiglobin reduzierend wirkt.

Neben diesen eigentlichen Stoffwechselgiften besteht die Möglichkeit einer Behinderung der Haemiglobinreduktion auch mittels anderer chemischer Substanzen. So z.B. bei Ausschaltung der Blutgerinnung durch Citrat oder Oxalat. Der auf die Reduktion des Hb^{III} hemmende Effekt des Oxalates kann bei Zugabe von Stoffwechselzwischenprodukten beseitigt werden (80). Auch die Stoffwechselzwischenprodukte selbst können sogar die Haemiglobinreduktion erschweren. Die Brenztraubensäure beeinflusst reaktionskinetisch die Milchsäurereduktion des Haemiglobins im negativen Sinne. Ähnlich ist das Verhalten der Malonsäure. Diese Säuren hemmen allerdings erst in höheren Konzentrationen die Reduktion durch Glucose (51), sodass sie bei physiologischen Verhältnissen wohl kaum als Hindernis für die Erhaltung des Blutfarbstoffes in der funktionsfähigen Form in Betracht kommen.

Literaturzusammenfassung

Obwohl das Haemoglobin in den Erythrocyten seiner physiologischen Aufgabe zum Sauerstofftransport allein in der niedrigen Oxydationsstufe gerecht werden kann, liegt doch ein kleiner Teil davon in der für diesen Zweck wertlosen Haemi-Form vor. Sie beträgt nach den verschiedenen Untersuchungen beim Erwachsenen nicht ganz 1% des Gesamtblutfarbstoffes. Beim jungen Säugling und im Nabelschnurblut liegen die Werte durchschnittlich höher, was auf funktionelle und strukturelle Besonderheiten der Erythrocyten im Neugeborenenalter zurückgeführt wird. Diese sind oxydativen Kräften gegenüber besonders anfällig. Zwischen dem grossen Haemoglobin- und dem kleinen Haemiglobinanteil stellt sich normalerweise im Organismus eine Art Gleichgewicht ein, an dessen Erhaltung eine Vielzahl von Faktoren beteiligt ist. Der Haemiglobinbildung arbeiten organismuseigene Kräfte in Form mehrerer Fermentsysteme entgegen. Das sind einerseits solche, die in den Kreis der glykolytischen Enzyme gehören und zu ihrer Wirksamkeit bestimmte Zwischenstoffwechselprodukte der Glykolyse brauchen.

Fig. II Schema der Faktoren des Haemo - Haemiglobingleichgewichtes



Neben Hexosemonophosphat, Milchsäure und besonders Glycerinaldehydphosphorsäure spielen das DPN und das ATP hierbei die wichtigste Rolle. Andererseits sind in diesem Mechanismus auch Fermente wirksam, welche oxydationshemmend wirken. Es sind das die Katalase, Peroxydase u.ä., welche dem Haemoglobin einen Schutz vor Oxydation geben oder Sauerstoff durch Übertragung unschädlich machen. Die Kräfte, welche das Gleichgewicht in Richtung Haemiglobin verlagern, sind in der Vielzahl der oxydativen Noxen und oxydationsbegünstigenden bzw. übertragenden Stoffe zu suchen. So z.B. Nitrit, Nitrat, Kaliumchlorat u.a. (6, 13, 14, 18, 33, 52, 53, 60, 62, 67, 69, 73, 75, 95, 99). Auch Sulfonamide und ähnlich gebaute Stoffe können in dieser Weise wirken (24, 25, 29, 30, 38, 44, 77). Endlich muss man an eine Neigung des zwar komplex gebundenen Eisens in den beiden Blutfarbstoffarten denken, sich mit dem vorhandenen Sauerstoff enger zu verbinden.

Der Mechanismus der verschiedenen Haemiglobinbildungen dürfte im wesentlichen über die gleichen oder ähnlichen Stufen gehen, wie oben angeführt. Eine strenge Trennung der die Reduktionsbehinderung bewirkenden bzw. nur sekundär an dieser beteiligten Stoffe ist bisher nicht möglich. Die Faktoren, die an dieser Wechselbeziehung teilnehmen, sind mannigfaltig und umstritten. Vieles ist dabei noch in der Schwebe und unklar. Jedoch sei der gegenwärtige Stand der Erforschung im obigen Schema wiedergegeben.

Aufgabe der hier durchgeführten Untersuchung war es:

1.) Unterschiede des fetalen und bleibenden Hbs oxydativen Noxen gegenüber festzustellen.
2.) Durch geeignete Vergiftung der reduzierenden Fermentsysteme den Grad der Neigung zur spontanen Haemiglobinbildung bei beiden Blutfarbstofftypen zu testen.
3.) Die Aktivität der haemiglobinreduzierenden Faktoren in Neugeborenen- und Erwachsenenerythrocyten zu prüfen.
4.) Ferner sollte erkannt werden, ob ausser den bekannten Faktoren noch andere bei der Reduktion mitwirken, und ob ausser den Reduktionsfermenten oxydationsverhindernde Fermente wirksam sind.

III. Methodik

Bei den Versuchen fand Nabelvenenblut[+] und Blut Erwachsener bzw. älterer Kinder Verwendung, das durch Zugabe einer Messerspitze feinpulverisierten Na-Citrats ungerinnbar gemacht wurde. Die Verarbeitung erfolgte sofort oder nach kurzer Aufbewahrung im Kühlschrank.

Zunächst wurde nun der Hb-Gehalt stufenphotometrisch über Cyanhaemiglobin bestimmt, die Blutproben in Doppelansätzen 3 mal mit physiologischer Kochsalzlösung in der Zentrifuge bei 3000 Umdrehungen 10 Minuten lang gewaschen, die über dem Zentrifugat stehende Flüssigkeit vorsichtig abgehebert, und die Proben schliesslich mittels 0,2 molaren Phosphatpuffers (Sörensen pH 6,8) auf 10g Hb/100 cm^3 eingestellt. Jeder Probe wurden ferner 500 mg Glucose pro 100 cm^3 Erythrocytensuspension zugesetzt.

Bei einem der beiden Ansätze erfolgte nun die Glykolysehemmung durch Zugabe von 2.10^{-2} mol. NaF und 2.10^{-3} mol. Monojodacetat (20, 46, 49, 66). Die Proben wurden anschliessend in gereinigte, trockene und gutschliessende, silikonisierte Gefässe gefüllt, und nach Bestimmung der Haemiglobinausgangswerte beide Blutansätze bei einer Temperatur von 30° C im Dunklen gehalten. Nach 5, 10 und 24 Stunden konnte durch Entnahme von 2 cm^3 Blut in beiden Erythrocytensuspensionen der Haemiglobinwert ermittelt werden. Zur Haemiglobinbestimmung fand die von KÜNZER und SAVELSBERG angegebene Methode (54) mit geringer Abweichung in Bezug auf die Testmenge (2 cm^3 Blut) Verwendung.

IV. Diskussion der Methode

Das wiederholte Waschen der Erythrocyten erschien nötig, um die Sicherheit völliger Entfernung nichtzellulärer Blutelemente zu haben. Denn es muss angenommen werden, dass bei der Reduktion des Haemiglobins dem Plasma - besonders beim Nabelschnurblut - eine nicht zu unterschätzende Rolle zukommt, vor allem was den Substratnachschub betrifft, wie entsprechende Versuche beweisen (56, 102). Überhaupt

---

[+] Herrn Prof. Dr. Karl Burger, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Würzburg, danke ich für die freundliche Überlassung des Nabelschnurblutes.

dürfte es sich auch bei diesem Prozess, wie allgemein bei allen Funktionen des Blutes, um ein Zusammenspiel beider Blutbestandteile handeln.

Die Zellsuspensionen wurden bei einer Temperatur von 30° C gehalten, was den physiologischen Gegebenheiten ungefähr entspricht. Obgleich durch die verschiedenen Arbeitsgänge bei einer Bebrütungstemperatur von 37° C keine wesentlichen morphologischen Veränderungen der roten Blutkörperchen wahrnehmbar sind, wurde, um Farb- und Zersetzungsveränderungen nach 24 stündiger Bebrütung auszuschliessen, obige Versuchstemperatur gewählt.

Zur Verhinderung der Blutgerinnung wurde Na-Citrat in trockener, pulverisierter Form verwendet. Bei Untersuchungen, die an Hunde-erythrocyten durchgeführt wurden, beschrieb SPIGER (80) einen hemmenden Effekt auf die durch Glucose bedingte Haemiglobinreduktion. Im Gegensatz dazu soll bei der Spontan- oder Lactatreduktion das Citrat die Reduktion sogar etwas fördern. Obgleich man eine gänzliche Entfernung des Citrats durch das Waschen annehmen möchte, besteht doch die Möglichkeit, dass Spuren von Natr. citr., die in die Blutkörperchen hinein diffundieren, in diesen verbleiben. Die Blutproben wurden so frisch wie möglich verarbeitet, da das Reduktionsvermögen der Erythrocyten oft schon nach einer 24-stündigen Aufbewahrung im Eisschrank eine verminderte Leistungsfähigkeit erkennen lässt (45).

V. Versuchsergebnisse

Der sich zu den Zeitintervallen 5, 10, 24 Stunden in den verschiedenen Versuchsreihen ergebende Haemiglobinanstieg wurde in den Tab. 1 - 4 niedergelegt. Dabei stellen die aufgeführten Werte den Anteil des Haemiglobins in Prozenten am Gesamtblutfarbstoff dar.

Tab. 1 Haemiglobinwerte des ungehemmten Erwachsenenblutes in % des Gesamtblutfarbstoffes.

Versuch Nr.:	Ausgangswert	5 St.-Wert	10 St.-Wert	24 St.-Wert
1	0,74	0,76	0,74	0,74
2	0,84	0,82	0,83	0,81
3	0,91	1,06	1,25	2,14
4	1,02	1,23	1,31	1,57
5	0,98	1,07	1,22	1,52
6	0,81	1,12	1,32	1,46
7	0,98	1,18	1,50	1,83
8	1,24	1,31	1,49	1,66
9	1,04	1,28	1,42	1,48
10	0,94	0,96	1,12	1,35
Mittelwert:	0,950	1,079	1,220	1,456
Mittlere Fehler des Mittelwertes in % :	± 4%	± 5%	± 6%	± 8%

Tab. 2 Haemiglobinwerte des ungehemmten Nabelschnurblutes in % des Gesamtblutfarbstoffes.

Versuch Nr.:	Ausgangswert	5 St.-Wert	10 St.-Wert	24 St.-Wert
1	0,73	1,11	1,10	1,53
2	1,98	2,18	2,72	4,10
3	0,95	1,51	1,76	2,31
4	1,02	1,23	1,66	3,58
5	0,85	1,37	1,98	2,73
6	0,87	1,25	1,82	2,99
7	0,89	1,18	1,50	3,67
8	1,25	2,36	2,72	2,84
9	0,88	1,32	1,89	2,81
10	0,99	1,95	2,69	4,05
Mittelwert:	1,041	1,546	1,984	3,061
Mittl. Fehler des Mittelwertes in %:	± 10%	± 9%	± 8%	± 9%

Wie man sieht, konnte bei Erwachsenen in unvergifteten Blutproben ein mittlerer Ausgangswert von 0,950 (± 4%) ermittelt werden (Tab.1). Nach 24 Std. ist unter den Versuchsbedingungen dieser Wert um die Hälfte angestiegen. Die Zunahme erfolgt in den Zeitabständen nahezu linear (siehe Fig. III). Die in Tab. 2 zusammengestellten Werte des Nabelschnurblutes zeigen unter analogen Bedingungen demgegenüber ein grundsätzlich anderes Verhalten: Schon der mittlere Ausgangswert zeigt eine geringfügige Erhöhung über das Erwachsenenniveau. Jedoch ist der Wert 1,04% (± 10%) obigem Vergleichswert gegenüber nicht signifikant.

Im weiteren Versuchsverlauf steigt die Haemiglobinmenge nach 5 Stunden um die Hälfte (1,54%), nach 10 Stunden auf ca. das Doppelte, nämlich 1,98%, nach 24 Stunden auf 3,061% an, und damit liegt diese Zahl um mehr als das Dreifache über dem Ausgangswert. Auch hierbei handelt es sich um einen linearen Anstieg.

Bei Hemmung der Reduktionssysteme verhält sich nun das Erwachsenenblut ähnlich dem unvergifteten Nabelschnurblut.

Tab. 3 Haemiglobinwerte des gehemmten Erwachsenenblutes in % des Gesamtblutfarbstoffes.

Versuch Nr.:	Ausgangswert	5 St.-Wert	10 St.-Wert	24 St.-Wert
1	0,83	1,58	1,99	5,37
2	0,85	1,53	1,81	7,50
3	0,94	1,88	2,19	3,38
4	1,11	1,53	2,09	4,61
5	0,99	1,71	2,01	4,40
6	0,91	1,76	2,61	7,01
7	0,98	1,47	2,06	5,20
8	1,24	1,82	2,35	4,07
9	1,01	1,83	2,22	5,13
10	0,96	1,24	2,47	5,52
Mittelwert:	0,982	1,635	2,180	5,219
Mittl. Fehler des Mittelwertes in % :	± 4%	± 4%	± 3%	± 7%

Schon der Ausgangswert liegt nach Vergiftung gering höher. Später erfolgt in den einzelnen Zeitintervallen eine Vermehrung der Werte um die Hälfte (1,64%) bzw. das Doppelte (2,18%) und mehr als das Fünffache (5,22%). Setzt man die Werte in Beziehung zur Zeit, so zeigt sich ähnlich wie bei den folgenden Werten der Tab. 4 ein logarithmischer Anstieg (Fig. III).

Bei einem Vergleich mit dem Ergebnis unvergifteten Erwachsenenblutes nach 24-stündiger Bebrütung ist der Haemiglobingehalt im ungehemmten System also auf 1,46% und bei Ausschaltung der Glykolyse auf 5,22% angestiegen. Dies entspricht einer 357%igen Zunahme.

Bei NaF- und Monojodessigsäurevergiftung des Nabelschnurblutes (Tab.4) findet man einen eklatanten Anstieg bis zum 10-fachen des Ausgangswertes:

Tab. 4 Haemiglobinwerte des gehemmten Nabelschnurblutes in % des Gesamtblutfarbstoffes.

Versuch Nr.:	Ausgangswert	5 St.-Wert	10 St.-Wert	24 St.-Wert
1	0,95	1,82	2,35	8,38
2	1,98	4,27	5,92	13,77
3	0,91	2,03	3,23	12,18
4	1,03	1,68	2,39	7,56
5	0,80	1,66	2,41	10,83
6	0,90	1,74	2,28	9,32
7	0,92	1,43	2,01	10,40
8	1,22	3,84	7,00	10,75
9	0,85	1,73	2,55	11,12
10	0,98	3,26	5,46	13,51
Mittelwert:	1,054	2,346	3,560	10,782
Mittl. Fehler des Mittelwertes in %:	± 10%	± 13%	± 15%	± 6%

Auch hier liegt bereits der Ausgangswert zur unbehandelten, analogen Blutprobe gering höher. Nach 5 Stunden ist der Haemiglobinwert bereits auf 2,35% und nach 10 und 24 Stunden auf 3,56% bzw. 10,78%(±6%)

angestiegen.

Um den mittleren Haemiglobinanstieg in den vier verschiedenen Versuchsreihen besser herauszustellen, d.h. um den Einfluss der differenten Ausgangswerte auf das Resultat auszuschliessen, wurde jeweils der Mittelwert der Ausgangskonzentration auf 0 bezogen und 5, 10 und 24 Stundenwerte danach berechnet (Tab. 5). Dabei wird offenbar, dass nach 24 Stunden beim UEB (ungehemmten Erwachsenenblut) von dem gesamten Blutfarbstoff 0,506%, beim GEB (gehemmten Erwachsenenblut) 4,237%, beim UNB (ungehemmten Nabelschnurblut) 2,020% und beim GNB (gehemmten Nabelschnurblut) 9,728% zur inaktiven Form oxydiert wurden.

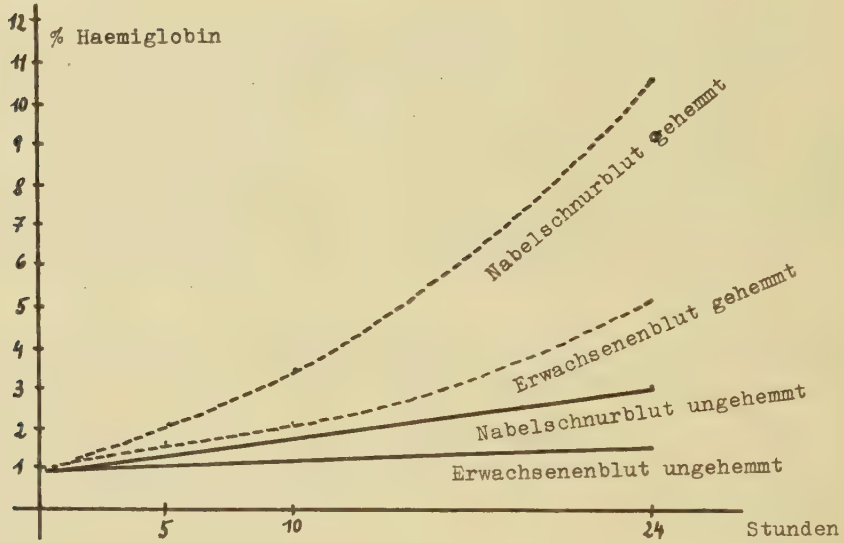
Tab. 5 Differenz der Haemiglobinwerte zu den Ausgangswerten in % des Gesamtblutfarbstoffes.

	a. Erwachs.Bl. ungehemmt	b. Erwachs.Bl. gehemmt	c. Nabelbl. ungehemmt	d. Nabelb gehemmt
Ausg.-Wert	0,0	0,0	0,0	0,0
5 St.-Wert	0,129	0,635	0,505	1,292
10 St-Wert	0,270	1,198	0,943	2,506
24 St-Wert	0,506	4,237	2,020	9,728

Nach 5 Stunden wurden beim UEB 0,129%, beim UNB 0,505%, beim GEB 0,635% und beim GNB 1,292% des Gesamtblutfarbstoffes zu Haemiglobin oxydiert. Nach weiteren 5 Stunden (10 St.-Wert) stiegen die Werte auf 0,270% beim UEB und beim UNB auf 0,943%, beim GEB auf 1,198% und beim GNB auf 2,506%.

Bei Einzeichnung der absoluten Grössen in ein Koordinatensystem zeigt sich eine lineare Zunahme des inaktiven Blutfarbstoffes bei den ungehemmten Versuchsreihen, während man bei gehemmter Glykolyse eine Kurve logarithmischen Anstieges findet, d.h. je weiter sich die Kurve von der Ordinate, auf welcher die Haemiglobinwerte aufgetragen sind, entfernt, desto stärker ist der Haemiglobinzuwachs pro Zeiteinheit. Diese Verhältnisse treffen sowohl für das Erwachsenenblut als auch für das Nabelschnurblut zu, nur ist bei letzterem das Bild ausgeprägter.

Fig. III Anstieg des Haemiglobinwertes im Laufe von 24 Stunden.



VI. Fehlerdiskussion

Methodisch wurde versucht, Ungenauigkeiten weitgehendst auszuschalten. Die Fehlergrenzen der verwendeten Apparate zur Haemo- und Haemiglobinbestimmung werden unterschiedlich beurteilt, doch dürften sie bei gewissenhafter, mehrmaliger Ablesung und Bestimmung des Mittelwertes nicht zu hoch zu veranschlagen sein. Der mittlere Fehler des Mittelwertes liegt im Durchschnitt bei $\pm$ 7%. Die Signifikanz, die nach THER (91) berechnet wurde, ist bei allen in Frage kommenden Unterschieden und Gegenüberstellungen gewahrt und beträgt im Mittel $k = 5,1$. Die 24-Stundenwerte sind mit $k = 8,6$, die 10-Stundenwerte mit $k = 4,5$ signifikant. Lediglich beim 5-Stundenwert wird die Signifikanzgrenze mit $k = 2,2$ eben erreicht. In nachfolgender Tabelle (Tab. 6) sind die einzelnen Werte aufgeführt.

Tab. 6 Signifikanz und Fehlerwerte.

	Mittelwert	Standard-abweichung	Mittl. Fehler d.Mittelwert.	Signifikanz zu:
Erwachs.Blut ungehemmt:				Erwachs.Bl. gehemmt
Ausgangswert	0,950	± 0,1328	± 0,0419 (±4%)	k= -
5 St.-Wert	1,079	± 0,1766	± 0,0558 (±5%)	k= 2,2
10 St.-Wert	1,220	± 0,2455	± 0,0776 (±6%)	k= 2,7
24 St.-Wert	1,456	± 0,4010	± 0,1268 (±8%)	k= 9,6
Erwachs.Blut gehemmt:				Nabel.Blut gehemmt
Ausgangswert	0,982	± 0,1147	± 0,0381 (±4%)	k= -
5 St.-Wert	1,635	± 0,1882	± 0,0595 (±4%)	k= 2,2
10 St.-Wert	2,180	± 0,2289	± 0,0723 (±3%)	k= 10,0
24 St.-Wert	5,219	± 1,1948	± 0,3778 (±7%)	k= 7,8
Nabelschn.Bl. ungehemmt:				Erwachs.Bl. ungehemmt
Ausgangswert	1,041	± 0,3388	± 0,1039 (±10%)	k= -
5 St.-Wert	1,546	± 0,4269	± 0,1350 (± 9%)	k= 2,1
10 St.-Wert	1,984	± 0,5280	± 0,1669 (± 8%)	k= 2,6
24 St.-Wert	3,061	± 0,8663	± 0,2739 (± 9%)	k= 5,3
Nabelschn.Bl. gehemmt:				Nabel.Blut ungehemmt
Ausgangswert	1,054	± 0,3271	± 0,1034 (±10%)	k= -
5 St.-Wert	2,346	± 0,9821	± 0,3105 (±13%)	k= 2,3
10 St.-Wert	3,560	± 1,7417	± 0,5508 (±15%)	k= 2,7
24 St.-Wert	10,782	± 1,9203	± 0,6073 (± 6%)	k= 11,6

VII. Diskussion der Ergebnisse

Für ein ausgeglichenes physiologisches System, in dem die Reduktion des Haemiglobins zu Haemoglobin allein den Blutzellen und den in ihnen wirkenden Fermenten obliegt, muss man theoretisch annehmen, dass sich die Oxydation des 2-wertigen Eisens zur 3-wertigen, und die Reduktion des 3-wertigen zur 2-wertigen Stufe die Waage hält, wenn die Reduktionsvorgänge durch nichts behindert werden. Darum müsste sich nach einer gewissen Zeit nicht mehr und nicht weniger inaktiver Blutfarbstoff finden als im Zeitpunkt des Versuchbeginns. Träfe dies nicht zu, könnte man einmal sehr niedrige und einmal sehr hohe Haemiglobinwerte im Blut verschiedener Personen beobachten, je nachdem ob bei diesen Personen die Oxydation oder die Reduktion des Blutfarbstoffes gestört ist, d.h. ob in diesem physiologischerweise bestehenden Gleichgewicht die Oxydationsneigung des Hbs einerseits, oder die Reduktionsfähigkeit bestimmter Körper und der Oxydationsschutz andererseits überwiegen. Da vor allem Störungen der Haemiglobinreduktion gut denkbar sind, lässt sich in solchen Fällen ein ständig erhöhter Haemiglobinspiegel pathologischerweise erwarten. In der Literatur sind nun derartige Fälle von chronischer Haemiglobinaemie tatsächlich beschrieben worden (12, 34, 90). Es handelt sich aber hierbei um Sonderfälle einer erblichen Störung, wobei Haemiglobin gefunden wird, welches in seinem Verhalten wesentlich von dem anderer Menschen abweicht (19). Damit ist offenbar die eminente Bedeutung der Art des Haemoglobinmoleküls an sich bei der Neigung zur Haemiglobinbildung bewiesen. Da das fetale Hb einen vom bleibenden Hb verschiedenen Blutfarbstofftyp darstellt, lässt sich darum ein anderes funktionelles Verhalten des ersteren im Vergleich zum letzteren vermuten.

Die in vorliegender Arbeit untersuchten Verhältnisse unter normalen, unveränderten Bedingungen sind bei Neugeborenen und Erwachsenen in ihren Mittelwerten oben durch Tab. 1,2,5 und 6 wiedergegeben. Hierbei zeigt sich, dass die Ausgangswerte des Erwachsenenblutes mit intaktem reduzierenden System im Durchschnitt unter 1% des gesamten Blutfarbstoffes liegen, wie auch in der Literatur bereits öfters angegeben wurde. So fand HEUBNER (31) durchschnittlich 0,7%, KÜNZER und SAVELSBERG (54) ähnliche Werte.

Obgleich in den ersten Versuchsreihen mit roten Blutkörperchen die Glykolyse unbeeinflusst gelassen wurde, stieg der Haemiglobingehalt in 24 Stunden um 0,506% des Gesamtblutfarbstoffes an (Tab. 5a) Diese Tatsache ist nicht ohne weiteres zu erklären und in folgenden Faktoren zu suchen:

Das zu allen diesen Versuchen gewonnene Blut wurde, wie bereits beschrieben, mittels Natr. citr. vor der Gerinnung bewahrt. Amerikanische Autoren (80) beschrieben an Hand von Hundeerythrocyten einen hemmenden Effekt des Citrates bei Glucosereduktion. Bei einer Spontanreduktion fanden sie im Gegenteil eine Förderung der Reduktion. Der Haemiglobinanstieg kann in unserem Falle durch das Citrat mit bedingt sein, obgleich dieses durch das Waschen der Blutkörperchen weitgehendst entfernt wurde. Nach den Versuchsbedingungen liegt aber eine Glucosereduktion vor, da Glucose im Überschuss zugesetzt wurde.

Die Ursache für die Vermehrung des Haemiglobins kann andererseits auch im Fehlen des Plasmas zu suchen sein, dem vermutlich durch gewisse Faktoren eine - wenn auch nur geringe - Reduktionsfähigkeit zugeschrieben wird, wie KÜNZER und Mitarbeiter (56) vor allem am Nabelschnurblut zu zeigen in der Lage waren. Sie führten dies auf eine Anhäufung von Brenztraubensäure im Nabelschnurblut zurück, die durch den anaeroben Ablauf des Kohlenhydratstoffwechsels auf den 3 fachen Wert des späteren Lebens ansteigt (88). Im Plasma des Erwachsenen findet sich zwar nur eine kleine Menge an Brenztraubensäure, was aber nicht bedeutet, dass diese an der Reduktion nicht teilnimmt. Das Reduktionsvermögen des Plasmas wäre demnach vor allem eine Frage der Brenztraubensäurequantität.

Das nach unserer Ansicht wesentlichste Moment aber ist bei dieser Erhöhung des Haemiglobingehaltes wohl in den beteiligten Fermentsystemen zu suchen, welche nach Entnahme aus dem Organismus mehr oder weniger schnell an Wirksamkeit einbüssen.

Geht man nun von der Annahme aus, dass die Verhältnisse, so wie sie bei der Versuchsreihe des ungehemmten Erwachsenenblutes gefunden werden, das normale Verhalten des menschlichen Blutfarbstoffes gegen-

über der Oxydation zu Haemiglobin darstellen, so kann man vergleichsweise sowohl über die Oxydierbarkeit des Haemoglobineisens als auch über die Aktivität der reduzierenden und der als Oxydationsschutz fungierenden Fermente des Erwachsenen- und des fetalen Haemoglobins eine Aussage machen.

Beim Nabelschnurblut findet man Ausgangswerte, die im Durchschnitt geringfügig über 1% liegen, was als normal angesehen werden kann und mit den in der Literatur angegebenen Werten von 7,5% (54) gut übereinstimmt. Dieser Anfangsgehalt steigt nach 24 Stunden um 2,02% des Gesamtblutfarbstoffes an. Für diese Erhöhung sind dieselben - bereits oben diskutierten Momente verantwortlich, die hier nur auf ein unterwertiges Reduktionssystem treffen.

Vergleicht man die Fehlergrenzen der mittleren Ausgangswerte und die Standardabweichungen untereinander, so streuen die einzelnen Ausgangswerte des Nabelschnurblutes (Tab. 2 und 4) mehr als doppelt so weit um den errechneten Mittelwert, als dies beim Erwachsenenblut der Fall ist (Tab. 1 u. 3). Man findet also beim Nabelschnurblut in viel stärkerem Masse hohe primäre neben niedrigen primären Haemiglobinwerten, was auf sehr unterschiedliches Verhalten des Nabelschnurblutes gegenüber Sauerstoff hinweist.

Vergiftung des Erwachsenen- und Nabelschnurblutes mit NaF und Monojodessigsäure ergibt - wie erwartet - signifikante Anstiege des Haemiglobinspiegels. Die Erwachsenenwerte zeigen eine relative Vermehrung um 4,2% in 24 Stunden, die des Nabelschnurblutes um 9,7% nach der gleichen Versuchsdauer. Für einen Vergleich sind analoge Untersuchungen in der Literatur leider nicht angegeben.

Die Bedeutung der Glykolyse für die Haemiglobinreduktion findet in diesen Ergebnissen erneute Bestätigung. Dies gilt jedoch nur für die Annahme, dass die beiden Mittel (NaF u. Monojodacetat) elektiv die an der Glykolyse bzw. Reduktion beteiligten Faktoren ausschalten und das Haemoglobinmolekül selbst und oxydationshemmende Fermente (Katalase u.ä.) unbeeinflusst lassen. Angaben über NaF- und Monojodessigsäurevergiftung an absolut reiner Haemoglobinlösung sind in

der Literatur nicht zu finden. Für die oxydationshemmende Katalase nebst Peroxydase muss weniger durch diese Gifte als durch die Temperatur (3, 86, 101) bei längerer Versuchsdauer eine Aktivitätsminderung angenommen werden. Es ist dann die Aussage über die reduzierenden Fermente cum grano salis zu beurteilen.

In Tab. 7 werden nun die Haemiglobinanstiege (Tab. 6) sinngemäss zueinander in Beziehung gesetzt. So kann man Aussagen machen über die A k t i v i t ä t der reduzierenden Fermente des Erwachsenen- und des Nabelschnurblutes, evtl. über die O x y d a t i o n s n e i g u n g bzw. den - s c h u t z des Blutes, sowie über die B i l d u n g s g e s c h w i n d i g k e i t des Haemiglobins.

Tab. 7 Gegenüberstellung der einzelnen Haemiglobinwerte, wobei die Werte der einen Versuchsreihe zur anderen in Beziehung gesetzt wurden.

	a) Erwachs.Bl. gehemmt	Nabel.Bl. gehemmt	b) Nabel.Bl. ungehemmt	Nabel.Bl. gehemmt
5 St.Wrt.	100%	203,4%	100%	255,8%
10 St.Wrt.	100%	209,1%	100%	265,7%
24 St.Wrt.	100%	229,5%	100%	481,5%

	c) Erwachs.Bl. ungehemmt	Erwachs.Bl. gehemmt
5 St.Wrt.	100%	492,2%
10 St.Wrt.	100%	443,7%
24 St.Wrt.	100%	837,3%

Oxydationsneigung des Nabelschnurblutes

In Tab. 7a werden die Werte des gehemmten Nabelschnurblutes denen des gehemmten Erwachsenenblutes gegenüber gestellt. Die reduzierenden Fermente sind also in beiden Fällen ausgeschaltet. Die Oxydationsneigung des Haemoglobins selbst müsste sich also so verhalten, wie wenn die Blutproben ungehemmt wären. Es zeigt sich, dass nach 5 St.

die Oxydationsneigung des Nabelschnurblutes 2,03, nach 10 St. 2,09 und nach 24 St. 2,29 mal so gross ist wie die des Erwachsenenblutes. Das bedeutet: Das Bestreben des fetalen Blutfarbstoffes, in die inaktive Form überzugehen, ist zu allen Zeiten m e h r a l s d o p p e l t so gross und nimmt im Laufe der Zeit immer stärker zu. Es dürfte der Unterschied im Hb-Molekül selbst liegen.

Reduktionsvermögen in den Nabelschnurerythrocyten

In Tab. 7b ist gehemmtes Nabelschnurblut ungehemmtem gegenübergestellt. Die Oxydationsneigung des Hb-Moleküls selbst ist in beiden Fällen gleich gross. Wenn nun im gehemmten System der Haemiglobingehalt ansteigt, so ist dies eine Aussage für die Aktivität der reduzierenden Nabelschnurfermente. Durch sie wird also verhindert, dass nach 5 St. der Haemiglobingehalt auf das 2,55 fache, nach 10 St. auf das 2,65 und beim Versuchsende auf das 4,81 fache angestiegen ist.

Reduktionsvermögen in den Erwachsenenerythrocyten

In Tab. 7c handelt es sich um die gleichen Verhältnisse wie in Tab. 7b, nur liegt jetzt Erwachsenenblut vor. Auch hier ist die Oxydationsneigung des Haemoglobins in beiden Fällen gleich gross. Wenn nun im gehemmten System der Haemiglobingehalt auf das 4,9 , 4,4 bzw. 8,4 fache ansteigt, so ist dadurch eine direkte Aussage über die Aktivität der reduzierenden Fermente gegeben. Die Fermentwirkung verhindert somit nach 5 St. einen Anstieg auf das 4,92 fache und anscheinend durch Aktivitätsvermehrung nach 10 St. auf das 4,43 fache. Nach 24 Stunden wird eine Zunahme auf das 8,37 fache verhütet. Da man ja normalerweise annehmen muss, dass das Haemiglobin linear anwächst, kann man sich vorstellen, dass der Anstieg auf das 8,37 fache nach 24 St. auf autokatalytische Wirkung von seiten des Haemiglobins bzw. auf Fermente zurückzuführen ist, welche von einem gewissen Haemiglobinspiegel an eine Hemmung erleiden. Oder was wahrscheinlicher erscheint, die Fermente sind temperaturempfindlich und werden mit der Dauer des Versuchs nach anfänglicher Aktivitätssteigerung gelähmt.

Unterschiede des Reduktionsvermögens im Erwachsenen- und Nabelschnurblut

Setzt man die Haemiglobinmengen, deren Bildung die Fermente des Nabelschnur- und Erwachsenenblutes verhindern (Tab. 6), zueinander in Relation und berücksichtigt, dass die Oxydationsneigung des fetalen Hbs nach 5, 10 und 24 Stunden 2,03 , 2,09 und 2,29 mal so gross ist wie die des reifen Haemoglobins, so ergibt sich bei dieser Gegenüberstellung beim 5 Stundenwert ein Verhältnis von 1 : 1,31 zwischen Nabelschnur- und Erwachsenenblut. Die entsprechenden Zahlen beim 10 und 24 Stundenwert sind 1 : 1,24 und 1 : 1,10. Da die an der Bildung verhinderte Haemiglobinmenge Ausdruck der Fermentaktivität ist, bedeuten die Verhältniszahlen, dass die reduzierenden Fermente des Erwachsenenblutes nach 5 St. 1,31, nach 10 St. 1,24 und nach 24 Stunden 1,10 mal so wirksam wie die des Nabelschnurblutes sind.

Bezieht man die Fermentaktivität des fetalen Blutes auf die des Erwachsenenblutes, die man gleich 100% setzt, so beträgt die Aktivität des ersteren nach 5 Stunden nur 76,33%, nach 10 St. 80,64% und nach 24 St. 90,90% von dem des Erwachsenenblutes, wobei der 5-Stundenwert den Verhältnissen in vivo wohl am nächsten kommt. Im Laufe der Zeit werden die Unterschiede zwischen den beiden Fermentsystemen immer geringer. Dies ist leicht dadurch zu erklären, dass durch die Dauer des Versuches die Wirksamkeit der Fermente immer kleiner wird, wodurch sich die Aktivitätsunterschiede immer stärker verwischen. Im ersten Abschnitt des Versuches ist die Aktivität des fetalen Fermentsystems aber deutlich um rund 1/3 vermindert. In der Literatur liegen die Angaben zum Teil im gleichen Bereich. KÜNZER und SCHNEIDER (56) fanden allerdings bei den von ihnen verwendeten Versuchsbedingungen eine Nabelschnurblut-Fermentaktivität von rund 50%. Diese grössere Aktivitätsminderung ist sicher darauf zurückzuführen, dass die erhöhte Oxydationsneigung des fetalen Hbs nicht berücksichtigt wurde. Für andere Fermente fanden zahlreiche Autoren Aktivitätsminderungen, die sich ebenfalls um rund 1/3 bewegen. So fand STEVENSON (85) den Carboanhydrasewert bei Neugeborenen um ungefähr 1/3 kleiner. An Erythrocytenenzymen des Nabelvenenblutes konnten JONES und McCANE (37) die Werte für Cholinesterase um 39,2%, Glyoxalase um 49,4% und SCHÜTZ (89) für die Katalase eine Minderung von 38,1% bzw. 32,8% nachweisen.

Durchschnittliche Bildungsgeschwindigkeit des Haemiglobins

Das Mass der Bildungsgeschwindigkeit ist der Stoffumsatz in der Zeiteinheit also v = dC/dT, in unserem Falle die pro Zeiteinheit gebildete Haemiglobinmenge.

Um nun zu untersuchen, wie sich die Reaktionsgeschwindigkeiten im Nabelschnur- und Erwachsenenblut zueinander verhalten, interessieren nicht absolute Grössen (Haemiglobin-Ausgangswert + Zunahme), sondern allein die relativen (Zunahme), wie sie für die Berechnung obiger Vergleiche bereits Anwendung fanden. Es wurde zu diesem Zweck festgestellt, um wieviel Prozent Haemiglobin die Blutproben in jeder Versuchsreihe von Untersuchung zu Untersuchung, d.h. nach je 5 Stunden bzw. 14 Stunden, reicher geworden sind. Diese Werte wurden mit Hilfe der Tab. 5 ermittelt. An Hand des jeweiligen Zuwachses lässt sich leicht angeben, wieviel Haemiglobin pro Stunde gebildet wurde. Die Berechnungen wurden für das gehemmte und das ungehemmte System angestellt.

Im ungehemmten System liegen dabei folgende Verhältnisse vor: Die Zellen dürften eine für die reduzierenden Fermente notwendige Substratmenge enthalten, die jedoch geringer als sonst ist, da vermutlich durch das Waschen der Erythrocyten die Stoffwechselprodukte weitgehendst entfernt wurden. Man kann deshalb für die erste Zeit eine relativ hohe Bildungsgeschwindigkeit erwarten, da zunächst die Kräfte geschwächt sind, welche der Haemiglobinbildung entgegenarbeiten. Wahrscheinlich werden nun durch die Glykolyse langsam soviel glykolytische Zwischenprodukte nachgebildet, dass die pro Zeiteinheit entstehende Haemiglobinmenge wieder kleiner werden muss. Die Untersuchungen bestätigen diese Annahme. Die Bildung von inaktivem Blutfarbstoff ist in den ersten 5 St. des Versuchs beim fetalen Haemoglobin mit 0,1010% pro St. rund 4 mal so gross wie im Erwachsenenblut mit 0,0259%. Während nun in fetalen Erythrocyten die Bildungsgeschwindigkeit in der 5. - 10. Stunde mit 0,0876%/St. und in der 10. - 24. Stunde mit 0,0769%/St. kontinuierlich abnimmt, steigt im Erwachsenenblut die Bildungsgeschwindigkeit mit 0,0282%/St. in der 5. - 10. St. noch geringfügig an, (die Bildungsgeschwindigkeit des Haemiglobins im Nabelschnurblut ist deshalb zu diesem Zeitpunkt

mehr als 3 mal so gross wie die im Erwachsenenblut), um gegen Versuchsende auf 0,0168% pro St. abzufallen und damit einen Wert zu erreichen, durch welchen die Bildungsgeschwindigkeit des Haemiglobins im Nabelschnurblut rund 5 mal grösser als im Erwachsenenblut ist.

Das verspätete Absinken der Haemiglobinbildungsgeschwindigkeit im Erwachsenenblut kann möglicherweise durch eine relativ verlangsamte Bildung von reduktionsfördernden Stoffen in den Erwachsenenerythrocyten erklärt werden. Vielleicht spielt die Menge des Haemiglobins dabei selbst eine Rolle.

Im gehemmten System hat die Haemiglobinbildungsgeschwindigkeit beim Nabelschnurblut in den ersten 5 Stunden mit 0,2584%/St. einen Wert, der 2 mal so hoch liegt wie der im Erwachsenenblut mit 0,1270%/St. Bei beiden Blutarten nimmt die Bildungsgeschwindigkeit in der 5. - 10. St. geringfügig ab, und zwar beim Erwachsenenblut auf 0,1126%/St. und beim Nabelschnurblut auf 0,2428%/St. Der Wert ist damit 2 mal so gross wie im Erwachsenenblut. Der Rückgang der Haemiglobinbildungsgeschwindigkeit ist jedoch im Erwachsenenblut relativ grösser als im Nabelschnurblut. In der 10. - 24. St. steigt die pro Stunde neu gebildete Haemiglobinmenge in beiden Fällen wieder an und erreicht bei Erwachsenen eine durchschnittliche Höhe von 0,2170%/St. und beim Nabelschnurblut 0,5158%/St. Damit übertrifft die Bildungsgeschwindigkeit des Haemiglobins im Nabelschnurblut diejenige des Erwachsenenblutes um das 2 1/2 fache.

Auffallend ist in beiden Fällen das Einsetzen einer Verlangsamung der Haemiglobinbildung in der 5. - 10. St., so dass man nach dem 10-Stundenintervall eine geringere Haemiglobinmenge findet, als man theoretisch an Hand der Bildungsgeschwindigkeit zu Beginn des Versuchs annehmen muss. Diese Verminderung des Haemiglobinzuwachses erfolgt bei einer absoluten Haemiglobinmenge von rund 2 - 3%. Man ist geneigt, diese Verlangsamung mit der Haemiglobinmenge von 2 - 3% in Zusammenhang zu bringen. Da sich dieses Phänomen nicht ohne weiteres erklären lässt, möchte man bei einer Gesamthaemiglobinmenge von rund 2 - 3% eine Aktivitätssteigerung der vorhandenen Fermente annehmen, oder aber das Haemiglobin hemmt bei einer bestimmten Konzentration seine eigene Bildung. Man muss sich darüber im

klaren sein, dass diese Werte der Bildungsgeschwindigkeit in den gehemmten Systemen nur von der Oxydationsneigung des Haemoglobins bzw. dem Oxydationsschutz abhängig sind. Die wahrscheinlich schon von vornherein vorhandene geringe Konzentration reduktionsfördernder Stoffe kann dabei vernachlässigt werden. Die Verlangsamung der Haemiglobinneubildung bei 2 - 3% Haemiglobin könnte deshalb auch auf einer Verminderung der Oxydationsneigung beruhen. Das Haemiglobin würde in diesem Fall bei einer Menge von 2 - 3% gleichsam einen weiteren "Oxydationsschutz" darstellen.

VIII. Zusammenfassung

1.) Bisherige Untersuchungen an Fermentsystemen und Blutfarbstoff des Neugeborenen im Vergleich mit Erwachsenen stellen weitere Fragen nach spontaner Haemiglobinbildung, Oxydationsneigung des Hb-Moleküls selbst, sowie Aktivität der dabei wirksamen, speziell aber der reduzierenden Fermente.

2.) Unter Berücksichtigung jüngster Erkenntnisse wird ein Schema der korrelativ beteiligten Faktoren entworfen.

3.) An Nabelschnur- und Erwachsenenblut erfolgt an Hand eingeführter Methodik die Untersuchung der Haemiglobinbildung ohne und nach Ausschaltung reduzierend wirkender glykolytischer Faktoren durch Natriumfluorid und Monojodessigsäure.

4.) Erwachsenen- und Nabelschnurblut zeigen unvergiftet nach 5, 10 und 24 St. einen nahezu linearen Anstieg ihres Haemiglobinspiegels um 50 bzw. 200%.

5.) Bei Vergiftung der Glykolyse nehmen die Haemiglobinwerte logarithmisch um 400 bzw. 900% zu.

6.) Die Oxydationsneigung des fetalen Hb-Moleküls erweist sich gegenüber dem Erwachsenen-Hb im Durchschnitt ca. 2,2 mal so gross.

7.) Im Nabelschnurblut ist eine Verminderung der Aktivität reduzierender, glykolytischer Fermente um rund 30% nach 5, um 20% nach 10 und 10% nach 24 Stunden gegenüber Erwachsenenblut nachzuweisen. Während die Reduktionskraft jedoch beim Nabelschnurblut gleichmässig abfällt, zeigt das Erwachsenenblut eine vorübergehende Aktivitätsvermehrung.

8.) Untersuchungen der Reaktionskinetik entsprechen den theoretischen Vorstellungen über den Ablauf der Glykolyse. Die Haemiglobinbildungsgeschwindigkeit ist im Nabelschnurblut rund 4 mal grösser als im Erwachsenenblut.

9.) Bei einer Gesamthaemiglobinmenge von ca. 2 - 3% kommt es sowohl beim Nabelschnur- als auch beim Erwachsenenblut zu einer Verzögerung der Haemiglobinbildung, die mit einer Verminderung der Oxydationsneigung des Haemoglobins erklärt wird.

Herrn Privatdozenten Dr. W. K ü n z e r

bin ich für Themastellung und wertvolle Anregung zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n

sage ich für die freundliche Übernahme des Korreferates verbindlichsten Dank.

Herrn Professor Dr. J. S t r ö d e r

danke ich aufrichtig für die Möglichkeit, an seiner Klinik diese Untersuchungen durchführen zu können.

Herrn Professor Dr. K. B u r g e r

danke ich für die Überlassung des verwendeten Nabelschnurblutes.

IX. Literaturübersicht

1. ADLER, E., H. von EULER, G. GÜNTHER: Skand. Arch. f. Physiol. 80, 1 (1938).
2. BETKE, K.: Naturwiss. 39, 481 (1952).
3. BINGOLD, K.: Münch. med. Wschr. 699 (1941).
4. BINGOLD, K., und W. STICH: Münch. med. Wschr. 1, (1950).
5. BOREI, H.: Ark. Kemi Min. Geol. 20A, Nr. 8 (1945).
6. CANNAVA, A.: Arch. "E.MARAGLIANO" Pat. 5, 727, (1950).
7. CLARK, B.B. und R.W. MORRISSEY: Blood 6, 532 (1951).
8. CORNBLATH, M. und A.F. HARTMAN: J. Pediat. 33, 421 (1948).
9. DISCHE, Z.,: Biochem. Z. 280, 248 (1935).
10. DISCHE Z.: Enzymologia 1, 288 (1936).
11. DUNKER, zit. BOREI Lit. Nr. 5.
12. EDER, a.E., C. FINCH and R.W. McKEE: J. clin. Invest. 28, 265 (1949).
13. ERBSLÖH, J.: Arch. Toxikol. 14, 321 (1953).
14. EULER, H. von, und A. GLASER: Dtsch. med. Wschr. 631 (1950).
15. EVELOFF, A.R.: Illinois med. J. 98, 5 (1950).
16. FEGLER, G.: J. of Physiol. 115, 123 (1951).
17. FOULKES, E.C.: Austral. J. Exper. Biol. a. Med. Sci. 29, 9 (1951).
18. GAD,I., E. JACOBSON, S. MADSEN und K. SCHMITH: Ugeskr. Laeg. 112, 1405 (1950).
19. GIBSON, Q.H.: Biochem. J. 42, 13 (1948).
20. GOURLEY, D.R.H.: Amer. J. of Physiol. 164 213 (1951).
21. GOURLEY, D.R.H.: Arch. Biochem. Biophys. 40, 13 (1952).
22. GRANICK, S.: Blood 4, 4o4 (1949).
23. HALPER, B.N. et P. DUBOST: Bull. Soc. Chim. biol. Paris 21, 717 (1939).
24. HARRIS, I.S. and H.O. MICHEL: J. clin. Invest. 43, 507 (1939).
25. HARRIS, I.S.: J. clin. Invest. 43, 521 (1939).
26. HAUSCHILD, F.: Arch. exper. Path. 182, 118 (1936).
27. HAUSCHILD, F.: Arch. exper. Path. 184, 458 (1937).
28. HEUBNER, W.: Erg. Physiol. 43, 8 (1940).
29. HEUBNER, W.: Klin. Wschr. 137 (1941).
30. HEUBNER, W.: Klin. Wschr. 520 (1942).

31. HEUBNER, W., M. KIESE, M.STUHLMANN, und W. SCHWARTZKOPFF-JUNG: Naunyn - Schmiedebergs Arch. 204, 313 (1947).
32. HODEN, H.F.: Austral. J. exper. Biol. a. Med. Sci. 25, 355 (1947).
33. HOFFMANN - OSTENDORF, O., E. BIACH und S. GIESER: Experentia (Basel) 3, 108 (1947).
34. HÖRLEIN, H. und G. WEBER: Z. ges. inn. Med. 6, 197 (1951).
35. ISSEKUTZ jr., B.von: Naunyn - Schmiedebergs Arch. 193, 569 (1939).
36. ITANO, H.A.: Science (Lancaster, Pa.) 117, 89 (1953).
37. JONES, P.E.H. and R.A. McCANCE: Biochem. J. 45, 464 (1949).
38. JONXIS, I.H.P.: Nederl. Tijdschr. Geneesk. 2038 (1942).
39. JONXIS, I.H.P.: Zit. nach SMITH, C.A.: The Physiology of the Newborn Infant. Springfield, Ill.: C.C.Thomas Publ. (1951).
40. JUNG, F.: Dtsch. Arch. klin. Med. 195, 454 (1949).
41. JUNG, F.: Mitteilung 2. Internat. Hämatol.-Kongress, Montreux (1949).
42. JUNG, F.: Dtsch. Gesundh. Wes. 6, 868 (1951).
43. JUNG, F.: Klin. Wschr. II 1016.
44. JÜRGENS, R. und W. SCHÜRER: Schweiz. med. Wschr. 75, 1055 (1945).
45. KIESE, M. und B. WEISS: Arch. exp. Path. Pharmak. 202, 493 (1943).
46. KIESE, M.: Biochem. Z. 316, 264 (1944).
47. KIESE, M.: Naturwiss. 32, 372 (1944).
48. KIESE, M.: Klin. Wschr. 24, 81 (1946).
49. KIESE, M.: Naunyn - Schmiedebergs Arch. 204, 288 (1947),
50. KIESE, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 208, 209 (1949).
51. KIESE, M. und W. SCHWARTZKOPFF: Naunyn - Schmiedebergs Arch. 204, 267 (1949).
52. KIESE, M. und M. SOETBEER: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 210, 305 (1950).
53. KIESE, M. und W. MÜNCH: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 211, 115 (1950).
54. KÜNZER, W. und W. SAVELSBERG: Klin. Wschr. 29, 648 (1951).
55. KÜNZER, W. und G. BREUNINGER: Z. Kinderheilk. 71, 415 (1952).
56. KÜNZER, W. und D. SCHNEIDER: Acta haematol. (Basel) 9, 346 (1953).

57. KÜNZER, W.: Monatsschrift f. Kinderhk. 102, Heft 2, 89.
58. KÜNZER, W.: Z. f. d. ges. exper. Med. 124, 465 (1954).
59. LARSEN, G.: Proc. Int. Soc. Hematology 25, (1950).
60. LECKS, I.H.: Amer. J. Dis. Childr. 79, 117 (1950).
61. LEHNARTZ, E.: Einführung in die Chemische Physiologie. Verl. Springer Berlin, 1o.Aufl. S. 381 (1952).
62. LEVY, H., V. LEVISON and A. SCHADE: Arch. of Biochem. 27, 34 (1950).
63. LOHMANN, K.: Biochem. Z. 236, 444 (1931).
64. LUNDSGAARD, E.: Biochem. Z. 220, 1 (1930) und 250, 61 (1932).
65. MALM, M.: Naturwiss. 28, 723 (1940) und 29, 318 (1941).
66. MANYAI, S. und M. SZEKELY: Act. Physiol. Acad. Scient. Hung. V. 7 (1954).
67. MARCUS, H. and I.R. JOFFE: New England J. med. 240, 599 (1949).
68. MARCUSE, R., I. RUNNSTRÖM: Ark. Kemi Min. Geol. 16A, Nr. 20 (1943).
69. MOSER, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 210, 468 (1950).
70. PONDER, E., and Ph. LEVINE: Blood 4, 1264 (1949).
71. PONDER, E.: Blood 6, 559 (1951).
72. RICH, A.: Proc. Nat. Acad. Sci. 38, 187 (1952).
73. ROHRBACH, F.: Österr. Z. Kinderheilk. 2, 296 (1949).
74. RUNNSTRÖM, I., E. SPERBER: Biochem. Z. 298, 340 (1938).
75. SAVIANO, M., P. De FRANCISCIS e E. BOERI: Boll. Soc. ital. Biol. sper. 27, 1576 (1951).
76. SAVELSBERG, W., J. HARZHEIM, W. KÜNZER: Klin. Wschr. 479, (1951).
77. SEIDE, G.: Biochem. Z. 308, 175 (1941).
78. SINGER, K., A.I. CHERNOFF and L. SINGER: Blood 6, 413, (1951).
79. SINGER, K., and A.J. CHERNOFF: Blood 7, 47 (1952).
80. SPICER, S.S., C.H. HANNA and A.M. CLARK: J. of biol. Chem. 177, 217 (1949).
81. SPICER, S.S. and A.M. CLARK: J. of biol. Chem. 179, 987 (1949).
82. SPICER, S.S. and I.G. WOOLEY: Arch. of Biochem. 27, 202 (1950).
83. SPICER, S.S., I.G. WOOLEY and V. KESSLER: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 77, 418 (1951).
84. STEELE, C.W. and W.W. SPINK: New Engld. J. Med. 208, 1152 (1933).
85. STEVENSON, S.S.: J. clin. Invest. 22405 (1943).

86. SUMNER, I.B. and G.F. SOMERS: Chemistry and Methods of Enzymes. 2nd ed. New York: Acad. Press 207 (1947).
87. SCHAPOTT, W.S.: Biochimija 3, 430 (1938).
88. SCHREIER, K. und R. DANKWART: Klin. Wschr. 29, 263 (1951).
89. SCHÜTZ, E.: Diss. Würzburg (1954).
90. TAGGART, J.: Amer. J. Med. 8, 90 (1950).
91. THER, L.: Pharmakologische Methoden, ersch. i. Wissschftl. Verlagsgeschft. Stuttgart, S. 71 (1949).
92. WARBURG, O., F. KUBOWITZ u. W. CHRISTIAN: Biochem. Z. 227, 245 (1930).
93. WARBURG, O.: Wasserstoff übertragende Ferment (1950).
94. WENDEL, W.B.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 28, 401 (1931).
95. WESLEY, D.: Arch. internat. Physiol. 60, 1 (1952).
96. WILBRANDT, W.: Pflügers Arch. 241, 302 (1938).
97. WILBRANDT, W.: Pflügers Arch. 243, 519 (1940).
98. WILLIAMS, I.R. and F.E. CHALLIS: J. Labor. a. clin. Med. 19, 166 (1933).
99. WILLIAMSON, J. and E.A. RUDGE: Biochem. J. 43, 15 (1948).
100. WLADIMIROV, G.E. and A.I. KOLOTILOVA: Biochimia 12, 321 (1947).
101. ZEILE, K.: Katalase, aus Bamann - Myrbäck; Die Methoden der Fermentforschung III, 2615 (1941).
102. ZIPF, H.F.: Naunyn - Schmiedebergs Arch. 206, 225 (1949).

Lebenslauf

Am 8. April 1929 wurde ich als Sohn des prakt. Arztes Dr. med. Anton S c h ü t z und seiner Ehefrau Adele, geb. Falb, in Aussig - Türmitz geboren. Nach Besuch der Volksschule trat ich 1940 in die 2. Klasse der Oberschule für Jungen in Aussig ein, arbeitete 1945 vorübergehend als Laborant bei der Firma Schering A.G. Aussig. Im Herbst 1946 setzte ich in der 7. Klasse der Oberrealschule in Dinkelsbühl meine Schulausbildung weiter fort und erwarb im Sommer 1948 das Zeugnis der Reife. Nach Ableistung meines Krankenpflegedienstes begann ich im Sommersemester 1949 mein medizinisches Studium an der Universität Würzburg und legte hier im Herbst 1951 das Physikum und im Sommer 1954 mein medizinisches Staatsexamen ab. Seither beschäftigte ich mich mit Abfassung der vorliegenden Arbeit und leistete mein Landvierteljahr ab.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und ausser der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Alfred Schütz

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG KOLLOFFSTEINSTR. 3